



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL**

**EFEECTO ANTIOXIDANTE DEL ZINC EN
POLLOS DE ENGORDA CRIADOS EN UN
AMBIENTE CÁLIDO**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS.**

P R E S E N T A :

CUAUHTÉMOC NAVA CUELLAR

TUTOR: ANTONIO DÍAZ CRUZ

**COMITÉ TUTORAL: RAQUEL GUINZBERG PERRUSQUÍA
Y CARLOS LÓPEZ CUELLO**

MÉXICO D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A Susana, por ser el material y el método con el que construyo mi vida, y al resto de mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Por las facilidades ofrecidas para la realización de esta investigación, agradezco al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la FMVZ, especialmente al Dr. Néstor Ledesma Martínez; asimismo al Dr. Daniel Camacho y a la empresa Novus.

Por las recomendaciones, verdaderamente útiles, a la Dra. Raquel Guinzberg y al Dr. Carlos López y Dr. Antonio Díaz.

El trabajo gratuito siempre tiene desencanto, así que cuando alguien ayuda sin obligación ni condición, demuestra que es un ser humano de primera, un amigo, un hermano. Por eso, un millón de gracias a Gerardo Ramírez y a su familia de 5 estrellas.

RESUMEN

El estrés oxidativo afecta al pollo de engorda debido a las condiciones actuales de producción. Esta alteración metabólica puede ser contrarrestada por antioxidantes agregados a la dieta. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antioxidante del ZnO y el Zn(HMTBa)₂ adicionado al alimento en pollos de engorda sometidos a una temperatura ambiental cálida y a una neutral. Pollos Ross 308 machos de 1 día de edad fueron asignados aleatoriamente a 16 tratamientos con 12 réplicas cada uno (n=192) en un diseño factorial 2x2x4 (temperatura ambiental, fuente de zinc y concentración de zinc). Los pollos se criaron en jaulas en batería dentro de cámaras de aislamiento hasta los 21 días de edad. Las concentraciones de zinc adicional probadas fueron 0, 40, 80 y 120 mg/kg. Los cambios de temperatura para el grupo criado en temperatura ambiente neutral fueron: 32–34°C los días 0–3, 30–32°C los días 4–6, 28–30°C los días 7–13, 26–28°C los días 14–21. Y para el grupo criado en temperatura ambiental cálida fueron: 32–34°C días 0–13, 32–34°C 12h/26–28°C 12h los días 14–21. La capacidad antioxidante, la lipoperoxidación y el daño proteínico por oxidación se midieron en plasma sanguíneo para determinar el efecto antioxidante. El zinc adicionado aumentó la capacidad antioxidante (P<0.05) y disminuyó la lipoperoxidación (P<0.05) respecto al grupo control (0 mg/kg). La dosis que mayor capacidad antioxidante produjo fue la de 120 mg/kg, la lipoperoxidación respondió de la misma forma a 40, 80 y 120 mg/kg. El ZnO disminuyó el daño proteínico por oxidación y la capacidad antioxidante (P<0.05) con respecto a Zn(HMTBa)₂. La temperatura ambiental cálida disminuyó la capacidad antioxidante y la lipoperoxidación en comparación con la temperatura ambiental neutral (P<0.05).

Palabras clave: Zinc, estrés oxidativo, pollo de engorda, FRAP, TBARS, carbonilación.

ABSTRAC

Oxidative stress affects broilers due to current production system. This metabolic abnormality may be counteracted by antioxidants added to diet. The aim of this study was to determine the antioxidant effect of ZnO and Zn(HMTBa)₂ added to food in broilers subjected to high ambient temperature and a neutral ambient temperature. Male broilers one-day-old (Ross 308) were randomly assigned to 16 treatments with 12 replicates each (n=192) in a 2x2 x4 factorial arrangement of treatments (temperature, source of zinc and zinc concentration). The chickens were kept in cages in temperature controlled rooms until 21 days old. Additional zinc concentrations tested were 0, 40, 80 and 120 mg/kg. The group exposed to neutral ambient temperature had the following changes: 32–34°C days 0–3, 30–32°C days 4–6, 28–30°C days 7–13, 26–28°C days 14–21. And 32–34°C days 0–13, 32–34°C 12 h/26–28°C 12 h days 14–21 for the group exposed to high ambient temperature. The antioxidant capacity, lipid peroxidation and protein oxidative damage in blood plasma were measured to determine the antioxidant effect. Supplemental zinc increased antioxidant capacity (P<0.05) and decreased lipid peroxidation (P<0.05) compared with control group (0 mg/kg). The doses 120 mg/kg increased antioxidant capacity. The lipoperoxidation responded the same way at 40, 80 and 120 mg/kg. The ZnO decreased protein oxidative damage and antioxidant capacity (P<0.05) with respect to Zn (HMTBa)₂. The high ambient temperature decreased antioxidant capacity and lipid peroxidation compared with the neutral ambient temperature (P<0.05).

Keywords: Zinc, oxidative stress, broilers, FRAP, TBARS, carbonilation.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno	4
Antioxidantes	6
Estrés oxidativo: generalidades	7
Estrés oxidativo: en el pollo de engorda	12
Zinc: funciones generales	15
Zinc: absorción y transporte	16
Zinc: homeostasis	18
Zinc: acción antioxidante	19
Fuentes de zinc	20
OBJETIVOS	22
HIPÓTESIS	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Instalaciones	24
Tratamientos	24
Alimento	27
Animales	33
Fase de campo	33
Toma de muestras	34
Pruebas de laboratorio	34
Análisis estadístico	39
RESULTADOS	41
Capacidad antioxidante	41
Lipoperoxidación	45
Daño proteínico por oxidación	50
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	61
REFERENCIAS	62
ANEXOS	79

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Diseño de los tratamientos.	26
Cuadro 2. Recomendaciones nutricionales para pollos de engorda Ross criados a menos de 1.9 kg de peso vivo, etapa de iniciación.	28
Cuadro 3. Fórmula de la dieta basal.	31
Cuadro 4. Contenido nutritivo calculado de la dieta basal.	32
Cuadro 5. Capacidad antioxidante en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.	43
Cuadro 6. Lipoperoxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.	47
Cuadro 7. Daño proteínico por oxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Interacción entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable capacidad antioxidante.	44
Figura 2. Interacción entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc en la variable lipoperoxidación.	48
Figura 3. Interacción entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable lipoperoxidación.	49
Figura 4. Interacción entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc en la variable daño proteínico por oxidación	53
Figura 5. Interacción entre fuente de zinc y temperatura ambiental en la variable daño proteínico por oxidación	54

INTRODUCCIÓN

La importancia económica de la industria productora de pollo se refleja en su crecimiento continuo. En el sector nacional, la producción de carne de ave (pollo y gallina) fue, entre el año 2005 y el 2009, la más importante del resto de las producciones cárnicas. Ya que en el 2009, la producción alcanzó los 2.63 millones de toneladas. Mientras que la producción de carne de bovino y de porcino fue de 1.70 y 1.16 millones de toneladas, respectivamente. A nivel mundial, la producción de carne de pollo se ha mantenido en crecimiento sostenido desde 2006. En este año, la tasa media de crecimiento anual de las importaciones internacionales se estimó en un 6.4%; superada solamente por la carne de porcino. (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2007; Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2010).

El sistema actual de producción de pollo de engorda es muy exigente con el metabolismo de las aves y favorece el desarrollo de una alteración conocida como estrés oxidativo; aproximadamente a partir de los 21 días de edad (Villar-Patiño *et al.*, 2002; Díaz-Cruz *et al.*, 2003). Los factores que ciertamente propician el estrés oxidativo en el pollo son rápido crecimiento, estrés calórico, micotoxinas y concentración de ácidos grasos poliinsaturados en el alimento. Las principales consecuencias del estrés oxidativo son el aumento de la conversión alimenticia, prevalencia de síndrome ascítico y afectación de la calidad de la carne y su

estabilidad durante el almacenamiento (Weber *et al.*, 2006; Maini *et al.*, 2007; Balogh *et al.*, 2008; Fébel *et al.*, 2008; Nain *et al.*, 2008; Altan *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010).

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en el organismo, a favor de los oxidantes. La consecuencia es el daño de tejidos debido a la modificación de lípidos, proteínas y ADN (Lykkesfeldt y Svendsen, 2007).

Las sustancias oxidantes se originan principalmente en la mitocondria durante la transducción de la energía. Los antioxidantes son sustancias que al estar presentes en baja concentración con respecto a un sustrato oxidable, retrasan o inhiben la oxidación de dicho sustrato. Los animales sintetizan enzimas, cofactores y moléculas de bajo peso molecular para protegerse de la oxidación, además, aprovechan algunas vitaminas, carotenoides y polifenoles que se encuentran en el alimento y que tienen efecto antioxidante (Halliwell y Gutteridge, 1990; Zicker *et al.*, 2006, Kirkman y Gaetani, 2007; Traber, 2007; Cemeli *et al.*, 2009; Laguerre *et al.*, 2007; Lykkesfeldt y Svendsen, 2007 Kirschvink *et al.*, 2008; Chisté *et al.*, 2011; Perron *et al.*, 2011).

El zinc es un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de todo tipo de vida; que además ha demostrado *in vitro* e *in vivo* propiedades antioxidantes. Las investigaciones *in vivo* se han hecho con peces, ratas y ratones, conejos y seres humanos (Kucukbaya *et al.*, 2006; Rubio *et al.*, 2007; Bruno *et al.*, 2007; Cortese *et al.*, 2008; Faa *et al.*, 2008; Prasad *et al.*, 2004; Varghese *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2011). En la alimentación práctica se emplean fuentes orgánicas e inorgánicas

de zinc las cuales reportan diferencias en la biodisponibilidad (Hudson *et al.*, 2005; Rodríguez, 2009).

En virtud de la importancia del pollo de engorda en la economía nacional, es necesario mejorar el sistema de producción que, entre otros factores, es afectado por el estrés oxidativo. El empleo de zinc como antioxidante puede ser una alternativa para contrarrestar dicha alteración metabólica.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

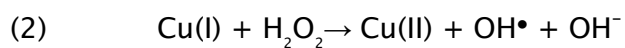
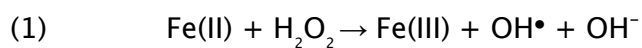
Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

El metabolismo animal se basa en una gran cantidad de reacciones químicas perfectamente sincronizadas. La oxidación y reducción son reacciones bioquímicas complementarias cuya característica es la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno: una especie química se oxida cuando pierde electrones, al mismo tiempo otra acepta los electrones y se reduce. La oxidación es responsable de la actividad celular, ya que, en los organismos aeróbicos, la oxidación de compuestos como la glucosa libera un flujo de electrones que son transferidos finalmente al oxígeno. En la mitocondria este flujo de electrones libera la energía necesaria para la producción de ATP (Nelson y Cox, 2008).

Sin embargo, cuando el oxígeno no es reducido completamente, la transferencia de electrones resulta en la producción de radicales libres de oxígeno y otros compuestos reactivos no radicales que en conjunto se conocen como especies reactivas de oxígeno (ERO) (Kowaltowski *et al.*, 2009). Se sabe que éstas actúan en procesos de señalización celular, aunque también dañan biomoléculas cuando sobrepasan su concentración fisiológica (Kietzmann y Görlach, 2005). Asimismo las ERO participan en la formación de especies reactivas de nitrógeno (ERN) las cuales tienen efectos similares (Patel *et al.*, 1999).

Los radicales libres son especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados y que existen en forma independiente. Los radicales libres actúan como agentes oxidantes al sustraer un electrón o un átomo de hidrógeno de algún otro compuesto. Las principales ERO son: oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$), radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radical hidroxilo (OH^\bullet), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical alcóxido (RO^\bullet) y radical peróxido (ROO^\bullet). Las principales ERN son: radical óxido nítrico (NO^\bullet), radical dióxido de nitrógeno (NO_2^\bullet) y peroxinitrito (ONOO^-) (Halliwell y Gutteridge, 1999; Jezek y Hlavatá, 2005).

La cadena de transporte electrónico mitocondrial es la principal fuente de ERO, pero también se generan en otros sitios, por ejemplo, retículo endoplásmico, citosol, fagosomas y peroxisomas. Aproximadamente el 2% de los electrones sale prematuramente de la cadena de transporte electrónico hacia el oxígeno, generando radical superóxido, aunque éste es poco reactivo puede interactuar con otras sustancias y formar ERO secundarias más dañinas. Para inactivar al radical superóxido las células lo dismutan en peróxido de hidrógeno mediante acción enzimática. El peróxido de hidrógeno y los metales de transición redox activos, Fe(II) y Cu(I), participan en la reacción de Fenton. El radical hidroxilo se forma en esta reacción como se muestra en las reacciones 1 y 2:



El radical hidroxilo es altamente reactivo, *in vivo* tiene una vida media de 10^{-9} segundos, por lo que reacciona con las moléculas cercanas al lugar donde se produce (Cash *et al.*, 2006; Valko *et al.*, 2007). El óxido nítrico se forma por la oxidación del nitrógeno guanidino de la L-arginina; catalizada por la enzima óxido nítrico sintasa. El óxido nítrico difunde fácilmente y reacciona con el anión superóxido y origina peroxinitrito que a su vez produce radical hidroxilo durante su transformación a nitratos (Aslan *et al.*, 2008).

Antioxidantes

Un antioxidante se define como cualquier sustancia que al estar presente en baja concentración con respecto a un sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación del sustrato (Halliwell y Gutteridge, 1990; Kirschvink *et al.*, 2008). Los antioxidantes donan electrones a las especies reactivas para inactivarlas o extinguirlas, de este modo, ellos mismos se convierten en radicales libres. Posteriormente, los antioxidantes oxidados son devueltos a su estado reducido por procesos demandantes de NADPH. Este reciclamiento asegura el correcto funcionamiento de la red de antioxidantes (Laguerre *et al.*, 2007; Lykkesfeldt y Svendsen, 2007).

Los antioxidantes pueden clasificarse en endógenos (enzimas, cofactores y moléculas de bajo peso molecular) y exógenos (vitaminas, carotenoides y polifenoles) (Ratnam *et al.*, 2006; Cemeli *et al.*, 2009). Las superóxido dismutasas son enzimas que transforman al radical superóxido en peróxido de hidrógeno

(Matés *et al.*, 1999). La concentración del peróxido de hidrógeno es controlada por catalasas y tiorredoxinas (Urigoien y Becker, 2006; Kirkman y Gaetani, 2007). Sobre este mismo sustrato actúan acoplados el glutatión y las enzimas glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Kirschvink *et al.*, 2008). Los tocoferoles (α , β , γ , δ) inactivan a los radicales involucrados en la oxidación en cadena de los ácidos grasos, y por eso se denominan “rompe cadenas” (Azzi, 2007; Traber, 2007). Sin embargo en este proceso los tocoferoles se convierten en radicales; y recuperan su estado original por la acción del ácido ascórbico, que a su vez se vuelve radical y es restaurado por el glutatión y las enzimas asociadas. Además, el ácido ascórbico inactiva al radical hidroxilo y a otros radicales presentes en los ambientes acuosos (Abudua *et al.*, 2004; Zicker *et al.*, 2006). Los carotenoides (carotenos, luteína y licopeno, entre otros) neutralizan a los radicales involucrados en la lipoperoxidación, al oxígeno singulete y a las ERN (Rao y Agarwal, 1999; Polyakov *et al.* 2001; Chisté *et al.*, 2011). Los polifenoles (ácidos fenólicos y flavonoides, principalmente) ligan metales de transición y así evitan la formación de los radicales hidroxilo y superóxido, además inactivan directamente a varios radicales libres centrados en oxígeno (Ferguson, 2001; Petti y Scully, 2009; Perron *et al.*, 2011).

Estrés oxidativo: generalidades

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en el organismo, a favor de los oxidantes. El resultado es la modificación oxidativa de

macromoléculas, apoptosis o necrosis. Las moléculas afectadas por el estrés oxidativo son ADN, ARN, lípidos, proteínas, carbohidratos, moléculas de bajo peso molecular y antioxidantes (Lykkesfeldt y Svendsen, 2007).

Lipoperoxidación. La lipoperoxidación es el daño oxidativo a los ácidos grasos poliinsaturados. La cantidad de dobles enlaces en los ácidos grasos promueve la lipoperoxidación, porque el enlace entre hidrógeno y carbono de los grupos metileno adyacentes a los dobles enlaces es débil (Agarwal *et al.*, 2003).

La lipoperoxidación puede ser enzimática y no enzimática. La enzimática es producida por las enzimas lipooxigenasas y ciclooxigenasas. Y no se relaciona con el estrés oxidativo ya que es un paso necesario en la síntesis de leucotrienos y prostaglandinas (Pinelli *et al.*, 199; Ivanov *et al.*, 2010). La no enzimática es inducida por agentes radicales o no radicales. El hidroxilo es el principal radical responsable, aunque los radicales peroxilo y alcoxilo también participan. El singulete de oxígeno y el ozono son los agentes no radicales involucrados (Laguerre *et al.*, 2007; Niki, 2009).

Las consecuencias principales de la lipoperoxidación son daño a membranas y generación de productos tóxicos secundarios. La pérdida de la fluidez así como la disfunción proteínica de las membranas se deben a la fragmentación de ácidos grasos, alteración de la relación entre ácidos grasos saturados y poliinsaturados y formación de enlaces cruzados lípido-lípido y lípido-proteína (Catalá, 2006; Pensalfini *et al.*, 2008).

La lipoperoxidación se divide en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En la iniciación, el agente iniciador sustrae un átomo de hidrógeno de un grupo metileno; en consecuencia se forma un radical lipídico (L•). En la etapa de propagación, el oxígeno se une al radical lipídico formando el radical lipoperoxilo (LOO•), el cual sustrae un hidrógeno de otro ácido graso cercano produciendo un nuevo radical lipídico más un lipohidroperóxido (LOO). Cada radical lipídico formado puede iniciar una nueva oxidación en cadena amplificando el daño. La etapa de terminación consiste en la unión de dos radicales lipídicos o lipoperoxilos para formar productos no radicales. Sin embargo, si los lipohidroperóxidos recién formados están en contacto con metales de transición pueden formar nuevamente radicales, pero ahora del tipo lipoalcoxilo (LO•), haciendo perdurar la lipoperoxidación (Carlsen *et al.*, 2005; Catalá, 2006; Laguerre *et al.*, 2007).

Los lipohidroperóxidos pueden descomponerse y originar aldehídos de cadena corta altamente reactivos como son malondialdehído (MDA), hidroxialquenal (HDA), hidroxil-2-nonenal (HNE) y hidroxihexenal (HHE), entre otros (Schneider *et al.*, 2008; Pamplona, 2008).

Además de los aldehídos es posible que se formen isoprostanos; moléculas semejantes a las prostaglandinas, pero con efectos nocivos como alteración de la fluidez y de la integridad membranal, vasoconstricción e inhibición de la agregación plaquetaria. Los isoprostanos se forman a partir de los radicales

lipoperoxilo provenientes de los ácidos araquidónico, linoleico, docosahexaenoico y eicosapentaenoico (Patrono *et al.*, 2005; Milne *et al.*, 2008).

También los ésteres de colesterol se oxidan; en este caso se generan radicales lipoperoxilo como intermediarios y oxiesteroles como productos finales. Éstos últimos se relacionan con la aterosclerosis en humanos. El efecto general de la oxidación del colesterol es una alteración de la membrana (Murphy *et al.*, 2008, Niki, 2009).

Oxidación de proteínas. Varias de las ERO y ERN, así como aldehídos de la lipoperoxidación, oxidan a los residuos de aminoácidos de las proteínas. La oxidación de la cadena lateral de la cisteína produce derivados sulfénicos, sulfónicos, sulfínicos; además, disulfuros entre cisteínas de la misma proteína, cisteínas de proteínas diferentes y cisteínas con glutatión. Cuando el oxidante es específicamente el ácido nítrico se produce una alteración llamada nitrosilación (Dalle-Donne *et al.*, 2003, Tsang y Chung, 2009).

La oxidación de la tirosina por peroxinitrito y radical hidroxilo produce 3-nitrotirosina y 3,4-dihidroxifenilalanina, respectivamente. La oxidación de la fenilalanina por ERO y ERN produce o-tirosina, p-tirosina y m-tirosina (Hawkins *et al.*, 2009; Danielson y Andersen, 2008).

Otra consecuencia de la oxidación proteínica es la formación de nuevos grupos carbonilo en los residuos de los aminoácidos. Los carbonilos aparecen por la acción de las ERO sobre prolina, arginina, lisina, treonina y aspartato o de

aldehídos de la lipoperoxidación sobre histidina, cisteína y lisina. Sin embargo los grupos carbonilo también surgen como consecuencia de reacciones no oxidativas como la glicación y glicosilación, aunque esto es menos significativo (Butterfield *et al.*, 2007; Yan y Forster; 2010).

Oxidación de ADN. El daño oxidativo del ADN causa mutagénesis, cáncer y diversas patologías cardiacas, neurológicas, digestivas, autoinmunes y hormonales (Sedelnikova *et al.*, 2010). El ADN afectado puede ser nuclear y mitocondrial. El ARN también es afectado ya sea por una oxidación directa o por una falla en la codificación debida a un daño primario en el ADN; en ambos casos se produce una síntesis defectuosa de proteínas (Valko *et al.*, 2007; Bates *et al.*, 2009).

El principal responsable del daño oxidativo es el radical hidroxilo, aunque también están implicados singulete de oxígeno, peroxinitrito, radical lipoperoxilo, MDA y HNE. Las alteraciones del ADN incluyen pérdida y modificación de las bases, rompimiento de las cadenas de nucleótidos, modificación de las desoxirribosas y enlaces cruzados entre las cadenas de nucleótidos (Moreira *et al.*, 2008; Kryston *et al.*, 2011).

El radical hidroxilo produce daño mediante reacciones de adición y sustracción. En las reacciones de adición el radical hidroxilo se une a cualquiera de las bases nitrogenadas, específicamente en los carbonos con doble enlace. En consecuencia se forma un aducto radical que, a través de varias reacciones, se transforma en una base modificada. En las reacciones de sustracción el radical hidroxilo quita un

átomo de hidrógeno a las desoxirribosas, particularmente de los carbonos 3, 4 y 5; así como del grupo metilo de la timina y del grupo 2-amino de la guanina. El resultado es la formación de radicales libres centrados en carbono que se transforman en bases y pentosas modificados. Otros agentes oxidantes causan daño por mecanismos similares (Dizdaroglu *et al.*, 2002; Evans *et al.*, 2004; Cadet *et al.*, 2010).

Se han detectado al menos 80 derivados de las bases nitrogenadas. Los más investigados y utilizados como indicadores de estrés oxidativo son: 8-oxo-7,8-dihidroguanina, 2,6-diamino-4-hidroxi-5-formamidopirimidina, 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (derivados de la guanina); 5,6-dihidroxi-5,6-dihidrotimina, 5-(hidroximetil) uracilo, 5-formil-uracilo, 5-hidroximetil-2'-deoxiuridina y 5-formil-2'-deoxiuridina (derivados de la timina); 5,6-dihidroxi-5,6-dihidrocitosina (derivada de la citocina) y 8-oxo-7,8-dihidroadenina (derivada de la adenina) (Cadet *et al.*, 2010; Sochacka y Smuga, 2007; Kryston *et al.*, 2011).

Estrés oxidativo: en el pollo de engorda

El sistema actual de producción favorece que el pollo de engorda desarrolle estrés oxidativo (Villar-Patiño *et al.*, 2002; Díaz-Cruz *et al.*, 2003). Las consecuencias particulares de esta condición metabólica son: aumento de la conversión alimenticia (Iqbal *et al.*, 2005; Bottje y Carstens, 2009), congestión cardíaca y síndrome ascítico (Iqbal *et al.*, 2001; Tang *et al.*, 2002; Nain *et al.*,

2008), lipoperoxidación en los músculos pectorales y de los muslos (Nam *et al.*, 1997; Avanzo *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2001). Se ha comprobado que esta lipoperoxidación afecta la calidad de la carne y su estabilidad en el almacenamiento (O'Neill *et al.*, 1998; Fellenberg y Speisky, 2006).

En general el estrés oxidativo se presenta a partir de la tercera semana de vida en condiciones estándar de crianza (Villar-Patiño *et al.*, 2002; Díaz-Cruz *et al.*, 2003; Eraslan *et al.*, 2005).

Los factores que inducen el desarrollo de estrés oxidativo son varios. Las estirpes de crecimiento rápido son más susceptibles a desarrollar lipoperoxidación y disminución de creatina cinasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa en el miocardio (Nain *et al.*, 2008). Esto es debido a que el crecimiento rápido de los pollos demanda que las mitocondrias generen más energía y en consecuencia más ERO (Cawton *et al.*, 1999). Si esta condición se mantiene, el mecanismo mitocondrial y la transducción de la energía fallan; lo que explica desde el punto de vista molecular del aumento de la conversión alimenticia (Iqbal *et al.*, 2005; Bottje *et al.*, 2006; Bottje y Carstens, 2009).

La temperatura ambiental influye en el estrés oxidativo. En pollos expuestos a una temperatura de 5 a 7°C por abajo de la zona de termoneutralidad se reduce la concentración de glutatión y de ácido ascórbico en hígado (Bottje *et al.*, 1998) y aumenta el MDA en cerebro y corazón (Mujahid y Furuse, 2009).

El estrés calórico agudo (de 33 a 35°C durante algunas horas) es capaz de producir en pollos de entre 21 a 48 días de edad un incremento del MDA en plasma e hígado, reducción de la actividad mitocondrial hepática, incremento de la producción de ERO en hígado y músculo esquelético; así como aumento de la actividad de catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa (Lin *et al.*, 2006; Mujahid *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2010).

El estrés calórico crónico (de 32 a 40°C de manera continua por varios días) favorece en pollos de 32 y 42 días de edad el incremento de MDA y la reducción de la actividad de las catalasa, glutatión reductasa y superóxido dismutasa en plasma, hígado, corazón y cerebro (Sahin *et al.*, 2002; Maini *et al.*, 2007).

En un diseño diferente, pollos de 36 días de edad expuestos 3 horas diarias a 37°C durante 3 días incrementaron la concentración de MDA y la actividad de catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en eritrocitos (Altan *et al.*, 2009).

Las fuentes de lípidos usadas en la alimentación de pollos son ricas en ácidos grasos poliinsaturados los cuales generan lipoperoxidación en hígado y eritrocitos (Fébel *et al.*, 2008).

La infestación por *Eimeria tenella* incrementa la lipoperoxidación en el epitelio intestinal y la concentración de MDA en plasma sanguíneo, además aminora la actividad de la superóxido dismutasa en el plasma (Georgieva *et al.*, 2006; Naidoo *et al.*, 2008). Varias investigaciones demuestran que al desafiar la respuesta

inmune las aves domésticas y silvestres desarrollan estrés oxidativo (Costantini y Møller, 2009).

El consumo de aflatoxinas y tóxina T-2 (desde 0.5mg/kg y 2.05mg/kg de alimento, respectivamente) incrementan la concentración de MDA y disminuyen el glutatión y el ácido ascórbico en el hígado, el plasma sanguíneo y los eritrocitos; además dañan la actividad de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa en los mismos tejidos (Leal *et al.*, 1999; Eraslan *et al.*, 2005; Weber *et al.*, 2006; Balogh *et al.*, 2008).

Zinc: funciones generales

El zinc es esencial para el crecimiento y desarrollo de todo tipo de vida. En los animales, es el segundo elemento traza más abundante. Dentro de las células se asocia principalmente a proteínas; como ión libre intracelular está a una concentración muy baja (entre 10^{-9} y 10^{-10} M) (O´Dell, 2000; Rubio *et al.*, 2007).

En las proteínas, el ion zinc forma complejos de coordinación con el nitrógeno de la histidina, el oxígeno del glutamato o el aspartato y el azufre de la cisteína; esta característica le permite ejecutar funciones catalíticas y estructurales. En el aspecto catalítico, los iones zinc participan, con más de 300 enzimas de todas las categorías, directamente en la formación o rompimiento de enlaces. En el aspecto estructural, estabilizan la estructura terciaria de las proteínas de manera análoga a los puentes disulfuro (Bettger y O´Dell, 1993; McCall *et al.*, 2000).

Por estas características el zinc se relaciona en todos los aspectos del metabolismo, en la regulación de la expresión génica, en la estabilidad de las membranas y de la cromatina, y en la inmunidad (Bettger y O´Dell, 1993; Faa *et al.*, 2008). La deficiencia de este nutriente produce retraso en el crecimiento, anorexia, paraqueratosis, baja eficiencia reproductiva, dermatitis y alopecia, entre otros (Salgueiro *et al.*, 2000; Silva-Santana, 2002; Rubio *et al.*, 2007).

Zinc: absorción y transporte

El zinc se absorbe principalmente en el intestino delgado, duodeno y yeyuno, tanto por transporte activo como pasivo. El transporte activo se satura cuando hay una ingestión alta y aumenta durante un consumo bajo. En cambio el transporte pasivo es proporcional a la concentración de zinc en el lumen intestinal. Además del mecanismo de transporte, la absorción depende de varias sustancias. Es favorecida por glucosa, lactosa, citrato, glicina, histidina, lisina, cisteína, metionina, ácido picolínico y piridoxina; y es menguada por fibra, ácido fítico, ácido oxálico, taninos, selenio, hierro y calcio. Una vez dentro del enterocito, el zinc se une a metalotioneínas o es transportado a la sangre (Salgueiro *et al.*, 2000; Faa *et al.*, 2008).

El 84% del zinc en la sangre es transportado por la albúmina, 15% por la α -2-macroglobulina y solamente el 1% por los aminoácidos cisteína e histidina; por estos medios se distribuye a todos los tejidos (Rubio *et al.* 2007; Faa *et al.*, 2008).

El 57% del zinc corporal se encuentra en el músculo esquelético, el 29% en el hueso, el 6% en la piel, el 5% en el hígado, el 2 ó 3% está en el resto de los tejidos; el plasma mantiene aproximadamente 0.1% (King *et al.*, 2000; Rubio *et al.*, 2007). Sin embargo, la importancia de esta distribución es relativa, ya que las neuronas y las células de la próstata acumulan más zinc que otros tejidos, demostrando que este metal tiene una función especializada en ellos (Eide, 2006).

El flujo de zinc entre el exterior e interior de las células es posible gracias a transportadores transmembranales. En total se han encontrado seis familias de transportadores de zinc, pero solamente dos son relevantes en eucariotas: la familia ZIP (Zrt- and Irt-like proteins) y la CDF (cation diffusion facilitator). Los transportadores ZIP se hallan en todos los niveles filogenéticos. A los miembros presentes en los mamíferos se les asigna el nombre sistemático de SLC39. Este grupo de transportadores se caracteriza por transportar zinc y otros iones metálicos del espacio extracelular o del interior de los organelos hacia el citoplasma. Aunque su mecanismo no es entendido completamente se sabe que pueden mover zinc a favor de un gradiente de concentración probablemente por un sistema simporte (Cousins *et al.*, 2006; Eide, 2006).

Los transportadores CDF también existen en todos los niveles filogenéticos. A sus miembros presentes en los mamíferos se les denomina Znt y además reciben el nombre sistemático de SLC30. Este grupo de transportadores hacen lo contrario que los ZIP, es decir, mueven zinc y otros iones metálicos del citoplasma hacia el exterior de las células o al interior de los organelos. Varios de ellos

pueden mover zinc en contra de un gradiente de concentración mediante un sistema antiporter utilizando H⁺ o K⁺. (Cousins *et al.*, 2006; Eide, 2006).

Las metalotioneínas son proteínas de bajo peso molecular (6–7 kDa) en las que aproximadamente una tercera parte de sus aminoácidos son cisteínas. Estas proteínas son capaces de unirse a Zn(II), Cu(I), Cd(II) y Hg(II); aunque su afinidad por el zinc es baja, con respecto a los otros elementos, en condiciones fisiológicas están unidas principalmente a él. En mamíferos existen cuatro isoformas; las metalotioneínas I y II se expresan en todos los tejidos, las III principalmente en el cerebro y las IV en el epitelio estratificado. Dentro de la célula se localizan en el citoplasma, lisosomas, mitocondrias y núcleo. Además de actuar como almacén y transporte de zinc, contrarrestan el exceso de metales de transición y han demostrado efecto antioxidante. La expresión de las metalotioneínas responde al estímulo de zinc, cobre, cadmio, citocinas, óxido nítrico, glucocorticoides y norepinefrina (Mocchegiani *et al.*, 2005; Formigari *et al.*, 2007).

Zinc: homeostasis

El zinc no absorbido y el endógeno se eliminan por las heces; menos de un 2% del endógeno se excreta por la orina. El zinc endógeno proviene de las células de la mucosa intestinal y las secreciones biliar, pancreática e intestinal. Otras vías por las que el organismo lo pierde son el sudor, el crecimiento del pelo y la descamación de la piel. La absorción intestinal y la excreción endógena son los mecanismos primarios que mantienen la homeostasis del zinc cuando la ingesta

es mayor o menor de la necesaria. La absorción disminuye y la excreción aumenta al exceder las necesidades. En contraste, la absorción aumenta y la excreción se reduce cuando el consumo es insuficiente. Otras medidas secundarias para corregir la deficiencia de este metal son: limitar su excreción urinaria y activar la liberación por el hueso e hígado (King, 2000; Faa *et al.*, 2008).

El contenido corporal de zinc aminora cuando hay una deficiencia, sin embargo, la disminución no es uniforme en todos los tejidos. El pelo, la piel, el corazón y el músculo esquelético mantienen concentraciones constantes; mientras que, la concentración baja significativamente en el plasma, el hígado, el testículo y el hueso (King, 2000).

Zinc: acción antioxidante

El zinc ha demostrado *in vitro* propiedades antioxidantes a través de tres mecanismos: 1) forma parte de la enzima antioxidante superóxido dismutasa, 2) induce la formación de metalotioneínas que almacenan metales e inactivan directamente al radical hidroxilo, 3) evita la oxidación específica de sitio de proteínas y lípidos inducida por Fe(II) y Cu(I) (Powell, 2000; Zago y Oteiza, 2001; Ho, 2004, Prasad, 2008).

El efecto antioxidante del zinc se ha probado *in vivo* y *ex vivo* bajo diferentes circunstancias y a través de varios indicadores. En seres humanos adultos que recibieron un suplemento de zinc (43 mg diarios en el alimento) por 8 semanas, la

concentración plasmática de MDA y de HNE disminuyó (Prasad *et al.*, 2004). Ratas destetadas que consumieron alimento con 50mg de zinc por kg durante 3 semanas redujeron sus niveles plasmáticos de isoprostanos (Bruno *et al.*, 2007). El zinc indujo el aumento de glutatión en células endoteliales de intestino de rata al ser desafiadas con peróxido de hidrógeno (Cortese *et al.*, 2008). En conejos que recibieron un suplemento de zinc de 1g/kg de alimento los isoprostanos en plasma y en aorta aminoraron (Jenner *et al.*, 2007). El estrés oxidativo aminoró en homogenizado de riñón de ratas alimentadas con sulfato de zinc (50mg/kg de alimento) y desafiadas con indometacina, los indicadores de estrés oxidativo fueron productos de la lipoperoxidación, carbonilación de proteínas, y actividad de catalasa y de la glutatión peroxidasa (Varghese *et al.*, 2009). El estrés oxidativo, medido a través de la expresión del Nrf2, aumentó en el testículo de ratones con una deficiencia inducida de zinc (Zhao *et al.*, 2011). El picolinato de zinc se probó en truchas arcoíris a las concentraciones de 30 y 60 mg/kg de alimento; en ellas, el MDA sérico y hepático disminuyó en ambos niveles de zinc; sin embargo, la disminución del estrés oxidativo no tuvo relación con parámetros productivos (Kucukbaya *et al.*, 2006).

Fuentes de zinc

De acuerdo al NRC (1994) las necesidades de zinc para pollos de engorda de 0 a 8 semanas es de 40 mg/kg. Para satisfacer esta necesidad se emplean normalmente fuentes inorgánicas y orgánicas de zinc. El óxido de zinc (ZnO) y el

sulfato de zinc (ZnSO_4) son las fuentes inorgánicas más comunes, sin embargo, tienen una baja disponibilidad debido a que reaccionan fácilmente y forman complejos insolubles. Dentro de las fuentes orgánicas se incluyen zinc–metionina, zinc–lisina y zinc–picolinato; formas químicas en las que el zinc se protege de sustancias de la dieta que limitan su absorción. Varias investigaciones reportan que cada fuente tiene una biodisponibilidad y efecto variable en pollos o gallinas (Cao *et al.*, 2000; Cao *et al.*, 2002; Hudson *et al.*, 2005; Rodríguez, 2009).

OBJETIVOS

Determinar el efecto del Zn adicionado en la dieta sobre el estrés oxidativo en el pollo de engorda para comprobar su propiedad antioxidante.

Determinar el efecto de la fuente de zinc (orgánica e inorgánica) adicionada en la dieta sobre el estrés oxidativo en el pollo de engorda.

Determinar el efecto de la temperatura ambiental sobre el estrés oxidativo en pollos de engorda.

HIPÓTESIS

El estrés oxidativo en los pollos de engorda disminuye al administrar dietas enriquecidas con zinc.

El estrés oxidativo en los pollos de engorda cambia por la fuente de zinc en el alimento.

El estrés oxidativo en los pollos de engorda cambia por la temperatura ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instalaciones

La fase de campo se realizó en las cámaras de aislamiento del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

El alimento se elaboró en la planta de alimentos del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo en el laboratorio del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Tratamientos

La concentración adicional de zinc, el tipo de fuente y temperatura ambiental se tomaron como variables explicativas. Las pruebas de laboratorio, que miden el estrés oxidativo, se manejaron como las variables respuesta. El experimento tuvo un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial en los tratamientos 2X2X4, con 12 réplicas por tratamiento donde cada pollo fue una unidad experimental. En consecuencia se evaluaron 16 tratamientos, los cuales se

describen en el Cuadro 1. El factor temperatura ambiental se evaluó a dos niveles: neutral (NE) y cálida (CA). El factor fuente de zinc se estudió a dos niveles orgánica (OR) e inorgánica (IN). El factor concentración adicional de zinc se evaluó a 4 niveles: 0 mg/kg de alimento (0), 40 mg/kg de alimento (40), 80 mg/kg de alimento (80) y 120 mg/kg de alimento (120). Los cambios en la temperatura ambiental para el nivel NE fueron: 32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21. Los cambios en la temperatura ambiental para el nivel CA fueron: 32-34°C días 0-13, 32-34°C (12 horas) días 14-24 y 26-28°C (12 horas) días 14-24.

Cuadro 1. Diseño de los tratamientos.

Tratamiento	Factores		
	Temperatura ambiental	Fuente de zinc	Concentración adicional de zinc
1	NE	Ninguna	0
2	NE	IN	40
3	NE	IN	80
4	NE	IN	120
5	NE	Ninguna	0
6	NE	OR	40
7	NE	OR	80
8	NE	OR	120
9	CA	Ninguna	0
10	CA	IN	40
11	CA	IN	80
12	CA	IN	120
13	CA	Ninguna	0
14	CA	OR	40
15	CA	OR	80
16	CA	OR	120

NE: neutral (32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21); CA: cálida (32-34°C días 0-13, 32-34°C/12 h los días 14-21 y 26-28°C/12 h los días 14-21); NI: inorgánica, OR: orgánica; 0: 0 mg/kg, 40: 40 mg/kg 80: 80 mg/kg, 120: 120mg/kg.

Alimento

Siete dietas fueron elaboradas para el experimento. Inicialmente, se elaboró una dieta basal según las necesidades nutricionales para etapa de iniciación indicadas en el manual de la estirpe (Aviagen, 2009) (Cuadro 2); excepto en el rubro del zinc, ya que no tuvo una fuente específica de este elemento.

Los ingredientes empleados en la dieta basal fueron: grano de sorgo, pasta de soya, aceite de soya, ortofosfato de calcio, carbonato de calcio, sal, metionina (Alimet[®]), L-lisina-HCl, L-treonina, cloruro de colina, coccidiostato (monensina sódica), bacitracina, butil hidroxitolueno (BHT), aluminosilicatos (Klin-Sil[®]), premezcla de vitaminas para alimento iniciador Novus[®] y premezcla de minerales traza sin zinc. La premezcla de minerales traza se elaboró con sulfato ferroso heptahidratado, sulfato de cobre pentahidratado, dihidroyoduro de etilendiamina (EDDI) y selenito de sodio. Es necesario mencionar que la dieta basal contuvo 27.86 mg/kg de zinc, cuyo origen fue el grano de sorgo y la pasta de soya. El valor fue calculado a partir del porcentaje de inclusión de estos ingredientes, de acuerdo al contenido nutritivo especificado por el NRC (1994). La fórmula y el contenido nutritivo de la dieta basal se pueden ver en los Cuadros 3 y 4, respectivamente.

Las dietas experimentales se obtuvieron al agregar, en la cantidad correspondiente, ZnO como fuente inorgánica o Zn-(HMTBa)₂ como fuente orgánica a la porción necesaria de la mezcla primaria (Anexo 1). El Zn-(HMTBa)₂ es un complejo formado por un átomo de zinc unido al ácido 2-hidroxi-4-

metiltiobutanoico; análogo de la metionina. Su nombre comercial es Mintrex® y es fabricado por la empresa Novus (Anexo 2). La contribución del Zn-(HMTBa)₂ en el contenido final de metionina se consideró para la formulación de las dietas. El alimento no se peletizó.

Cuadro 2. Recomendaciones nutricionales para pollos de engorda Ross criados a menos de 1.9 kg de peso vivo, etapa de iniciación (Aviagen 2009).

Nutriente	Unidad	Valor	
Energía	Kcal/EM	3025	
Aminoácidos		Total	Digestible
Lisina	%	1.43	1.27
Metionina & Cistina	%	1.07	0.94
Metionina	%	0.51	0.47
Treonina	%	0.94	0.83
Valina	%	1.09	0.95
Isoleucina	%	0.97	0.85
Arginina	%	1.45	1.31
Triptófano	%	0.24	0.20
Proteína Cruda	%	22-25	
Calcio	%	1.05	
Fosforo Disponible	%	0.50	
Magnesio	%	0.05-0.50	
Sodio	%	0.16-0.23	
Cloro	%	0.16-0.23	
Potasio	%	0.40-1.00	
Cobre	mg/kg	16	
Yodo	mg/kg	1.25	
Hierro	mg/kg	40	
Manganeso	mg/kg	120	
Selenio	mg/kg	0.30	
Zinc	mg/kg	100	

Continúa en la siguiente página.

Cuadro 2. Recomendaciones nutricionales para pollos de engorda Ross criados a < 1.9 kg de peso vivo, etapa de iniciación (Aviagen 2009) (continuación).

Nutriente	Unidad	Valor	
		Trigo	Maíz
Vitamina A	UI/kg	12000	11000
Vitamina D ₃	UI/kg	5000	5000
Vitamina E	UI/kg	75	75
Vitamina K (Menadiona)	mg/kg	3	3
Tiamina (B ₁)	mg/kg	3	3
Riboflavina (B ₂)	mg/kg	8	8
Ácido Nicotínico	mg/kg	55	60
Ácido Pantoténico	mg/kg	13	15
Piridoxina (B ₆)	mg/kg	5	4
Biotina	mg/kg	0.20	0.15
Ácido Fólico	mg/kg	2.00	2.00
Vitamina B ₁₂	mg/kg	0.016	0.016
Colina	mg/kg	1600	
Ácido Linoleico	%	1.25	

Cuadro 3. Fórmula de la dieta basal.

Ingrediente	% de inclusión
Sorgo Grano	54.279
Pasta de soya 48	35.866
Aceite de soya	4.80
Ortofosfato 18/20	2.050
Carbonato de Ca	1.300
Sal (NaCl)	0.450
Aliment [®]	0.412
L-lisina-HCl	0.200
L-treonina	0.130
Cloruro de colina	0.100
Premezcla de Vitaminas	0.100
Bacitracina	0.030
Butil hidroxitolueno (BHT)	0.015
Secuestrante de micotoxinas	0.100
Premezcla de minerales s/Zn	0.044
Zn*	0.006
Total	100.000

* Óxido de zinc o Zn-(HMTBa)₂.

Premezcla de minerales (mg/kg): CuSO₄·5H₂O, 65.31; EDDI, 1.57; FeSO₄·7H₂O, 133.33; MnO; Na₂SeO₃, 0.69.

Cuadro 4. Contenido nutritivo calculado de la dieta basal.

Nutriente	Unidades	Valor
EM	kcal	3027
PC	%	21.34
Metionina	%	0.74
Metionina+Cistina	%	1.07
Lisina	%	1.40
Arginina	%	1.43
Triptófano	%	0.28
Treonina	%	0.94
Valina	%	1.06
Isoleucina	%	0.96
Glicina+Serina	%	1.843
Histidina	%	0.564
Leucina	%	1.825
Fenilalanina	%	1.076
Fenilalanina+Tirosina	%	1.946
Prolina	%	1.120
Ca	%	1.00
P	%	0.50
Na	%	0.19
K	%	0.91
Cl	%	0.38
Ácido linoleico	%	1.25
Zn	mg/kg	27.86
Colina	mg/kg	1851

Animales

Se utilizaron 192 pollos de la estirpe Ross 308, machos, de 1 día de edad vacunados contra Marek procedentes de una incubadora comercial localizada en Ticuman Morelos.

Fase de campo

Las cámaras de aislamiento se lavaron y desinfectaron 72 horas antes de iniciar el experimento. En cada uno se instaló: una jaula en batería con 4 niveles de 2 secciones (8 secciones en total), con un comedero, un bebedero, un termómetro de máximas-mínimas y un foco (fuente de calor) por sección; un termómetro ambiental; un higrómetro y 2 calentadores eléctricos portátiles de 1500 W en el piso, orientados de tal forma que el flujo de calor no incidiera directamente sobre las aves. Los calentadores se encendieron 12 horas antes de alojar a las aves.

El experimento tuvo una duración de 21 días. Los 192 pollos machos se asignaron aleatoriamente a los tratamientos, 12 pollos en cada uno de los 16 tratamientos. El área de piso para cada pollo fue de 412.5 cm². La alimentación fue *ad libitum* durante todo el experimento y se aseguró siempre la disponibilidad de agua. En el día 7, los pollos se vacunaron contra Newcastle (laboratorios Bio-Zoo) vía ocular.

En los tratamientos con temperatura ambiental neutral el manejo fue el siguiente: 32-34°C los días 0-3, 30-32°C los días 4-6, 28-30°C los días 7-13,

26–28°C los días 14–21. En los tratamientos con temperatura ambiental cálida el manejo fue el siguiente: 32–34°C días 0–13, 32–34°C por 12 horas y a 26–28°C las otras 12 horas los días 14–21. La humedad relativa de los cuartos de aislamiento fue de 35–40% en temperatura neutral y 30–40 % en temperatura cálida. Se realizó un registro de las aves muertas en cada uno de los tratamientos.

Toma de muestras

El día 21 se tomaron 4 ml de sangre utilizando jeringas desechables, agujas de calibre 21 y tubos Vacutainer® con EDTA. La toma de sangre se hizo mediante punción cardíaca, aplicando inmediatamente después la eutanasia mediante dislocación cervical. Los tubos fueron centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos (Núñez y Bouda, 2007). Los plasmas se separaron y transfirieron a tubos de microcentrífuga, uno por cada prueba de laboratorio. Finalmente, se congelaron a –40°C hasta su análisis.

Pruebas de laboratorio

Capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante se midió mediante la prueba de poder antioxidante por reducción férrica (FRAP) de Benzie y Strain (1999).

Esta prueba se basa en que los antioxidantes impiden la oxidación de un sustrato mediante una reacción redox en donde el oxidante se reduce a expensas

del antioxidante. La prueba exceptúa a los antioxidantes que actúan mediante quelación o desactivación enzimática. Los antioxidantes presentes en una muestra reducen al Fe(III) en un medio ácido transformándolo en Fe(II), el cual en presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina forma un complejo de color azul cuya absorbancia se puede medir a 593nm.

Alícuotas de 100 μ l se tomaron por duplicado de cada muestra; a cada una se les agregó 1.5 ml de una mezcla formada por una solución amortiguadora de acetato 300 mM a pH 3.6, una solución acuosa de cloruro férrico hexahidratado (Fe(III)) 20 mM y 2,4,6-tripiridil-s-triazina 10 mM (disuelto en HCl 40 mM), en una relación 10:1:1 respectivamente. Las muestras se incubaron en agitación a 37°C por 10 minutos y se obtuvieron las absorbancias en un espectrofotómetro a 593 nm. Las muestras, los tubos de ensayo y las soluciones con 2,4,6-tripiridil-s-triazina se protegieron de la luz todo el tiempo. Para calcular los resultados se realizaron curvas patrón con diferentes concentraciones (de 0.2 a 1.6 mM) de ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-carboxílico (trolox); derivado hidrosoluble de la vitamina E. De tal manera que la formación de Fe(II) debida a los antioxidantes reductores de la muestra se comparó con la formación debida al trolox en la curva patrón. Por lo que los resultados se reportaron como nmol equivalentes a trolox por ml de muestra (nmol Eqtrolox/ml).

Lipoperoxidación. Ésta se midió mediante la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al procedimiento descrito por Ohkawa *et al.* (1979).

El MDA es un producto secundario de la oxidación de los ácidos grasos de 3 o más dobles ligaduras, que reacciona con el ácido tiobarbitúrico en un medio ácido y una temperatura alta. El producto de la reacción tiene un color rosa-naranja que absorbe luz entre 532 y 535nm. Es importante precisar que existen otros aldehídos, producidos en la oxidación de ácidos grasos, que al igual que el MDA reaccionan con ácido tiobarbitúrico, por lo que en conjunto se les llama TBARS (Hoyland y Taylor, 1991).

En tubos de centrífuga, alícuotas de 100 μ l se transfirieron por duplicado de cada plasma, y se mezclaron con 1 ml de ácido tiobarbitúrico al 0.8% en solución acuosa y 2 ml de HCl al 20% (pH ajustado a 2.5). Los tubos se mantuvieron en ebullición por 60 minutos y se enfriaron en hielo durante 5 minutos, posteriormente se les agregó 5 ml de n-butanol y se agitaron vigorosamente para luego centrifugarse 10 minutos a 4000 rpm. Los sobrenadantes se leyeron en un espectrofotómetro a 532 nm para obtener sus absorbancias. La concentración sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en las muestras se calculó usando curvas patrón de MDA (entre 10 y 80 μ M). El MDA se obtuvo de la hidrólisis de 1,1,3,3-tetraethoxipropano en HCl 0.1N durante 12 horas a temperatura ambiente (Gutteridge, 1975); una molécula de 1,1,3,3-tetraethoxipropano produce 1 molécula de MDA, por lo que la molaridad se mantiene (Lawrence et al., 1979). Los resultados se reportaron en nmol de malondiadehído por ml de muestra (nmol MDA/ml).

Daño proteínico por oxidación. Se cuantificó mediante la determinación de grupos carbonilo de acuerdo al procedimiento reportado por Levine *et al.* (1990).

La aparición de nuevos grupos carbonilo en los residuos de aminoácidos de proteínas es evidencia de daño por oxidación. La 2,4-dinitrofenilhidrazina se une de forma selectiva a los grupos carbonilo de las proteínas formando un complejo hidrazona estable que puede ser cuantificado en un espectrofotómetro a 370 nm.

En primer lugar se midió la concentración de proteína en las muestras mediante la técnica de Bradford (1969). Para ello, de cada plasma se tomaron 10 μ l para hacer una dilución 1/50. De cada dilución se tomaron 50 μ l en tubos de ensayo y se mezclaron con 50 μ l de agua destilada más 2 ml del reactivo de Bradford. Este reactivo fue hecho con 100 mg de azul de Coomassie G-250, 50 ml de etanol al 95%, 100 ml de ácido fosfórico al 85% y agua destilada suficiente para alcanzar 1 litro de solución final. Los tubos se incubaron a temperatura ambiente por 5 minutos y se leyeron a 595 nm. Cada prueba se realizó por duplicado. Los resultados se calcularon mediante una curva patrón con soluciones acuosas de albúmina sérica bovina (de 8 a 64 μ g en 100 μ l), y fueron expresados como mg de proteína por ml de plasma. A partir de estos valores se calculó el volumen necesario para tener 2mg de proteína.

En segundo lugar se determinó la concentración de carbonilos. Para este fin, por cada plasma, cuatro tubos de microcentrífuga se etiquetaron como: prueba (P), prueba duplicado (PD), control (C) y control duplicado (CD). Posteriormente, volúmenes de plasma que contuvieron 2mg de proteína fueron transferidos a los

tubos. A los tubos P y PD se les agregó 500 μ l de 2,4-dinitrofenilhidrazina 10 mM disueltos en HCl 2 M, mientras que a los tubos C y CD se les agregó 500 μ l de HCl 2 M. Los tubos se mantuvieron 1 hora a temperatura ambiente, en la obscuridad, agitándose cada 15 minutos. A continuación, la proteína se precipitó adicionando 600 μ l de ácido tricloroacético al 20% (P/V) y centrifugando los tubos a 11000 x g durante 5 minutos, el sobrenadante fue desechado. Los precipitados se lavaron para eliminar la 2,4-dinitrofenilhidrazina que no se unió a los carbonilos, para esto se les agregó 1 ml de una mezcla de etanol anhidro y etil acetato en una relación 1:1 (V/V), luego se centrifugaron a 11000 x g durante 5 minutos y el sobrenadante se desechó, este proceso se repitió 3 veces. Por último, a los tubos se les agregó 1 ml de una solución acuosa de hidrocloreuro de guanidina 6 M más fosfato de potasio monobásico 20 mM (pH ajustado a 2.3), se agitaron e incubaron a 37 °C por 20 minutos para poner en suspensión el precipitado. La absorbancia de las muestras se obtuvo en un espectrofotómetro a 370 nm. Para calcular los resultados, la absorbancia promedio de los tubos control se restó a la absorbancia promedio de los tubos prueba, este valor se utilizó para obtener la concentración de carbonilos empleando un coeficiente de absorptividad molar de 22000 M⁻¹cm⁻¹, los valores se reportaron en nmol por mg de proteína (nmol /mg).

Análisis estadístico

Todas las pruebas se realizaron con el programa SPSS Statistics 11.0 (SPSS inc.). Las variables respuesta (capacidad antioxidante total, lipoperoxidación y daño proteínico por oxidación y conversión alimenticia) se analizaron por separado mediante un ANDEVA para diseño factorial de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijkn} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \delta_k + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \epsilon_{ijkn}$$

Donde:

Y_{ijkn} = Valor observado de la variable respuesta en estudio obtenido de la n -ésima repetición del i -ésimo nivel del factor temperatura ambiental, del j -ésimo nivel del factor fuente de zinc y del k -ésimo nivel del factor concentración de zinc.

μ = Efecto de la media general.

α_i = Efecto del i -ésimo nivel del factor temperatura ambiental.

β_j = Efecto del j -ésimo nivel del factor fuente de zinc.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto del factor interacción del i -ésimo nivel del factor temperatura ambiental con el j -ésimo nivel del factor fuente de zinc.

δ_k = Efecto del k -ésimo nivel del factor concentración adicional de zinc.

$(\alpha\delta)_{ik}$ = Efecto del factor interacción del i -ésimo nivel del factor temperatura ambiental con el k -ésimo nivel del factor concentración adicional de zinc.

$(\beta\delta)_{jk}$ = Efecto del factor interacción del j -ésimo nivel del factor fuente de zinc con el k -ésimo nivel del factor concentración adicional de zinc.

$(\alpha\beta\delta)_{ijk}$ = Efecto del factor interacción del i -ésimo nivel del factor temperatura con el j -ésimo nivel del factor fuente de zinc y el k -ésimo nivel del factor concentración adicional de zinc.

ϵ_{ijkn} = Error experimental, variable aleatoria de la n -ésima repetición del i -ésimo nivel del factor temperatura ambiental, del j -ésimo nivel del factor fuente de zinc y del k -ésimo nivel del factor concentración adicional de zinc.

Cuando el factor concentración mostró efecto significativo se hicieron comparaciones múltiples mediante prueba de Tukey. Una $\alpha = 0.05$ se utilizó en todas las pruebas. Los datos de las variables capacidad antioxidante total y lipoperoxidación se transformaron a su logaritmo base 10 para lograr normalidad y homogeneidad de varianzas antes de someterse al ANDEVA y prueba de Tukey.

RESULTADOS

Capacidad antioxidante

La prueba de FRAP, empleada para medir este indicador, cuantifica la cantidad total de antioxidantes reductores que se encuentran en el plasma, por lo tanto, los valores superiores indican menor estrés oxidativo. Los resultados se reportan en nmol Eqtrolox/ml.

En el Cuadro 5 se muestran los valores de la capacidad antioxidante por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental. En él se observa que el factor concentración adicional de zinc tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$). los niveles 40 (media=603.604), 80 (media=616.329) y 120 (media=686.820) fueron diferentes y superiores al nivel 0 (media=473.939) ($P < 0.05$). Los niveles 40 y 80 fueron iguales entre sí e inferiores respecto al nivel 120, por lo tanto, la mayor capacidad antioxidante se encontró en el nivel 120. El factor fuente de zinc fue significativo ($P < 0.05$). La fuente orgánica indujo mayor capacidad antioxidante (media= 616.063) que la fuente inorgánica (media=574.283). El factor temperatura ambiental también fue significativo ($P < 0.05$), en este caso, la mayor capacidad antioxidante se presentó en el nivel neutral con una media de 678.480, contra 511.866 producidos por la temperatura cálida. Asimismo se observa que hubo una interacción significativa entre concentración y temperatura ($P < 0.05$).

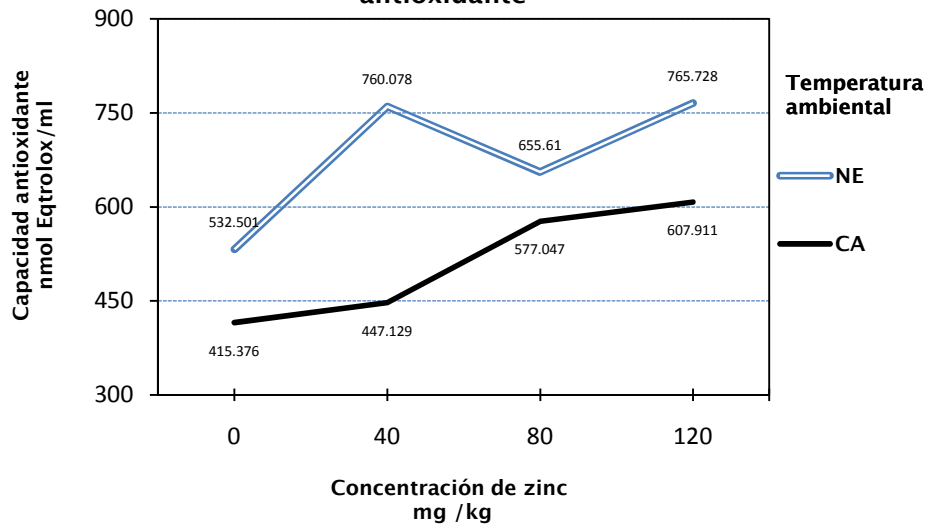
Al graficar las medias de celdas para representar la interacción entre los factores concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable capacidad antioxidante (Figura 1). Se observa que la capacidad antioxidante fue mayor en los pollos criados en un ambiente con temperatura neutral que en los criados en uno con temperatura cálida. También se observa que el efecto de la concentración adicional de zinc no fue el mismo en ambas temperaturas ambientales. En un ambiente con termoneutral, la adición de zinc a una concentración de 40 mg/kg fue suficiente para alcanzar una capacidad antioxidante semejante a la producida por 120 mg/kg, mientras que en uno cálido 120 mg/kg indujeron el valor más grande.

Cuadro 5. Capacidad antioxidante en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.

Factor	P	Nivel	Media nmol Eqtrolox/ml
Concentración adicional de zinc	0.000	0	473.939 ^a
		40	603.604 ^b
		80	616.329 ^b
		120	686.820 ^c
Fuente de zinc	0.011	IN	574.283 ^a
		OR	616.063 ^b
Temperatura ambiental	0.000	NE	678.480 ^b
		CA	511.866 ^a
Interacciones			
Concentración x Fuente	0.462		
Concentración x Temperatura	0.000		
Fuente x Temperatura	0.687		
Concentración x Fuente x Temperatura	0.473		

0: 0 mg/kg, 40:40 mg/kg, 80: 80mg/kg, 120: 120 mg/kg; IN: inorgánica, OR: orgánica; NE: neutral (32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21); CA: cálida (32-34°C días 0-13, 32-34°C/12 h los días 14-21 y 26-28°C/12 h los días 14-21); los superíndices distintos representan diferencias significativas a una P<0.05.

Figura 1. Interacción entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable capacidad antioxidante



NE: neutral, CA: cálida.

Lipoperoxidación

En la prueba de TBARS que se utilizó para medir este indicador, la concentración de MDA observada es directamente proporcional a la magnitud de la lipoperoxidación en una muestra, entonces, los valores grandes indican mayor estrés oxidativo. Los resultados se reportan en nmol MDA/ml.

En el Cuadro 6 se muestran los valores de lipoperoxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental. El factor concentración adicional de zinc resultó significativo ($P < 0.05$). Los niveles 40 (media=7.375), 80 (media=7.232) y 120 (media=7.739) fueron iguales entre sí y diferentes al nivel 0 que desarrolló la mayor lipoperoxidación (media=12.535). El factor fuente de zinc no fue significativo ($P > 0.05$). El factor temperatura ambiental fue significativo ($P < 0.05$). El nivel neutral (media=9.894) desarrolló la mayor lipoperoxidación en comparación al nivel cálida (media=7.547). Las interacciones significativas fueron entre: concentración y temperatura ($P < 0.05$), y concentración y fuente ($P < 0.05$).

En la Figura 2 se presenta la interacción entre la concentración adicional de zinc y la fuente de zinc en la variable lipoperoxidación. Los valores corresponden a las medias de celdas. En esta figura se observa que al adicionar zinc en cualquier concentración (40, 80 o 120 mg/kg) la lipoperoxidación disminuyó respecto al control, tanto al usar la fuente inorgánica como la orgánica. Y que las dos fuentes

tuvieron aproximadamente los mismos valores excepto en la concentración de 80 mg/kg, donde se presentó un efecto contrario; ello no alteró la tendencia general.

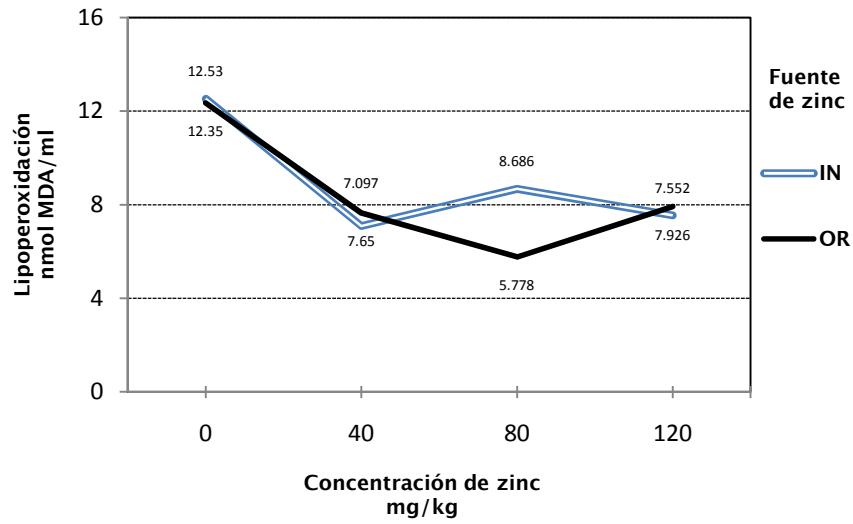
En la Figura 3 se muestra la interacción entre los factores concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable lipoperoxidación. Los valores corresponden a las medias de celdas. La lipoperoxidación en el plasma de las aves disminuyó respecto a los controles (0 mg/kg), al adicionar 40, 80 y 120 mg de zinc/kg, tanto en temperatura ambiental neutral como en cálida. Pero en la temperatura neutral, la concentración de 40 mg/kg redujo menos la lipoperoxidación que las concentraciones de 80 y 120 mg/kg; ésta últimas concentraciones produjeron valores similares entre ellas. Por el contrario, en la temperatura ambiental cálida, 40 mg/kg hicieron descender más la lipoperoxidación que 80 y 120 mg/kg, que tuvieron valores similares entre ellos. También se observa que en la temperatura cálida las aves desarrollaron menor lipoperoxidación que en la neutral.

Cuadro 6. Lipoperoxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.

Factor	P	Nivel	Media nmol MDA/ml
Concentración adicional de zinc	0.000	0	12.535 ^b
		40	7.375 ^a
		80	7.232 ^a
		120	7.739 ^a
Fuente de zinc	0.114	IN	8.968
		OR	8.473
Temperatura ambiental	0.000	NE	9.894 ^b
		CA	7.547 ^a
Interacciones			
Concentración x Fuente	0.000		
Concentración x Temperatura	0.000		
Fuente x Temperatura	0.864		
Concentración x Fuente x Temperatura	0.265		

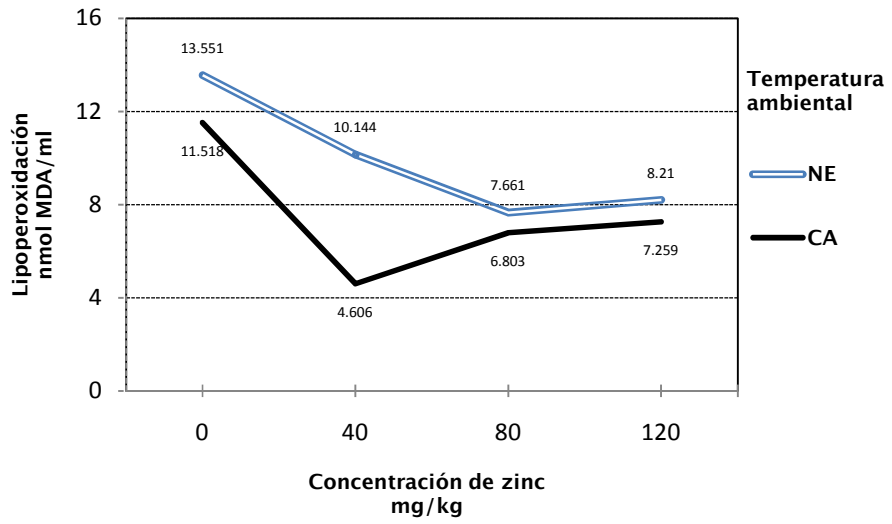
0: 0 mg/kg, 40:40 mg/kg, 80: 80mg/kg, 120: 120 mg/kg; IN: inorgánica, OR: orgánica; NE: neutral (32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21); CA: cálida (32-34°C días 0-13, 32-34°C/12 h los días 14-21 y 26-28°C/12 h los días 14-21); los superíndices distintos representan diferencias significativas a una P<0.05.

Figura 2. Interacción entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc en la variable lipoperoxidación



IN: inorgánica, OR: orgánica.

Figura 3. Interacción entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental en la variable lipoperoxidación



NE: neutral , CA: cálida.

Daño proteínico por oxidación

Esta variable se midió mediante la concentración de grupos carbonilo en las proteínas de la muestra. El aumento de carbonilos es indicio de daño proteínico por oxidación, por lo tanto, los valores grandes significan mayor estrés oxidativo. Los resultados se presentan en nmol/mg de proteína.

En el Cuadro 7 se presentan los valores del daño proteínico por oxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental. En él se observa que el factor concentración adicional de zinc no tuvo efecto sobre esta variable ($P > 0.05$). El factor fuente de zinc fue significativo ($P < 0.05$); la fuente que produjo mayor daño proteínico fue la orgánica (media=1.504) en comparación con la inorgánica (media=1.344). El factor temperatura ambiental no fue significativo ($P > 0.05$). Por otro lado, las interacciones entre concentración y fuente, concentración y temperatura, fuente y temperatura, además de concentración, fuente y temperatura fueron significativas ($P < 0.05$).

En la Figura 4 se presenta la interacción entre la concentración adicional de zinc y la fuente de zinc en el daño proteínico por oxidación (los valores corresponden a las medias de celdas). En ella se percibe que la fuente orgánica indujo un mayor daño proteínico por oxidación que la inorgánica en cada una de las concentraciones probadas; aunque los cambios, en cada concentración, fueron opuestos según la fuente empleada. Las concentraciones probadas de la fuente orgánica de zinc (40, 80 y 120 mg/kg) produjeron una mayor respuesta que el

control (0mg/kg), la respuesta al adicionar 40 mg/kg fue mayor que con 80 y 120mg/kg, y fue similar al adicionar 80 y 120 mg/kg. Todas las concentraciones probadas de la fuente inorgánica fueron similares entre ellas y al control.

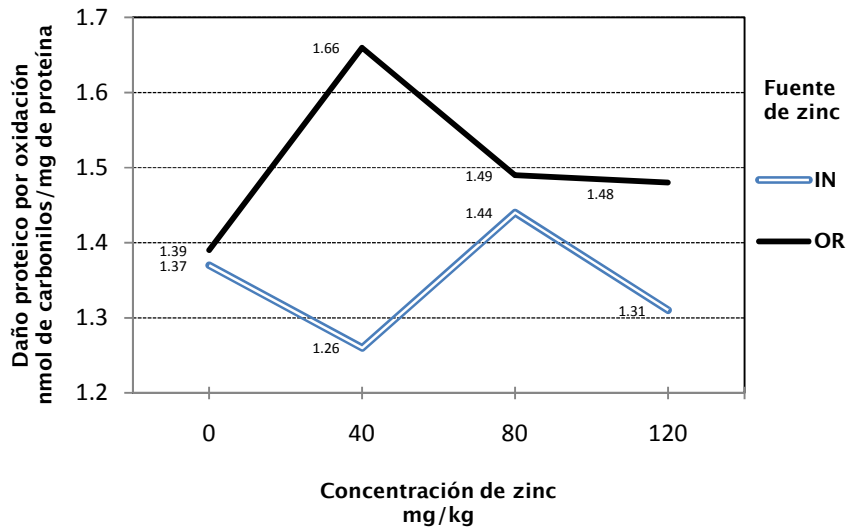
En la Figura 5 se muestra la interacción entre la fuente de zinc y la temperatura ambiental en el daño proteínico por oxidación (los valores corresponden a las medias de celdas). En ella se observa que la fuente orgánica produjo mayor daño proteínico por oxidación que la fuente inorgánica. Se observa también que la fuente orgánica disminuyó ligeramente el daño proteínico en pollos criados en temperatura ambiental cálida, en comparación a los de temperatura ambiental neutral. El efecto contrario lo produjo la fuente inorgánica, es decir, aumentó el daño proteínico en la temperatura ambiental cálida en comparación a la neutral.

Cuadro 7. Daño proteínico por oxidación en plasma sanguíneo por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.

Factor	P	Nivel	Media nmol carbonilos/ mg proteína
Concentración adicional de zinc	0.195	0	1.373
		40	1.464
		80	1.469
		120	1.397
Fuente de zinc	0.000	IN	1.344 ^a
		OR	1.504 ^b
Temperatura ambiental	0.344	NE	1.419
		CA	1.441
Interacciones			
Concentración x Fuente	0.000		
Concentración x Temperatura	0.004		
Fuente x Temperatura	0.018		
Concentración x Fuente x Temperatura	0.000		

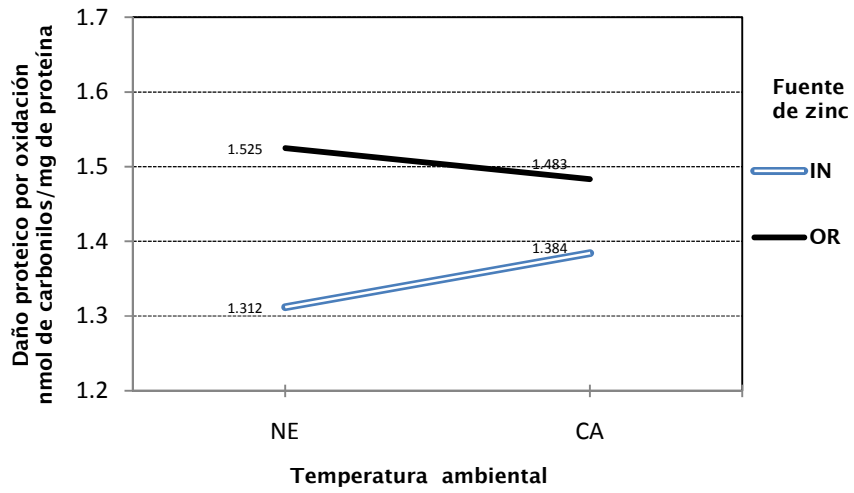
0: 0 mg/kg, 40:40 mg/kg, 80: 80mg/kg, 120: 120 mg/kg; IN: inorgánica, OR: orgánica; NE: neutral (32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21); CA: cálida (32-34°C días 0-13, 32-34°C/12 h los días 14-21 y 26-28°C/12 h los días 14-21); los superíndices distintos representan diferencias significativas a una $P < 0.05$.

Figura 4. interacción entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc en la variable daño proteínico por oxidación



IN: inorgánica, OR: orgánica.

Figura 5. Interacción entre fuente de zinc y temperatura ambiental en la variable daño proteínico por oxidación



NE: neutral, CA: cálida, IN: inorgánica, OR: orgánica.

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que el zinc tiene efecto antioxidante en el pollo de engorda cuando se adiciona en la dieta. La evidencia de esto es que aumentó la capacidad antioxidante y disminuyó la lipoperoxidación en el plasma sanguíneo de estos animales (Cuadros 5 y 6).

Según el análisis estadístico, la concentración de zinc que produjo mayor capacidad antioxidante fue la de 120 mg/kg, mientras que las concentraciones de 40mg/kg y 80mg/kg tuvieron un efecto inferior sin mostrar diferencias entre ellas; todas fueron superiores al control (0 mg de zinc/kg) (Cuadro 5).

Sin embargo, hubo una interacción significativa entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental (Cuadro 5). Al analizarla gráficamente (Figura 1), se observa que el efecto de la concentración de zinc, antes mencionado, ocurre cuando las aves son mantenidas en una temperatura ambiental cálida. Pero cuando las aves se crían en un ambiente termoneutral, 40 mg de zinc/kg son suficientes para alcanzar una capacidad antioxidante semejante a la producida por 120 mg/kg.

Respecto a la lipoperoxidación, las concentraciones de zinc de 40, 80 y 120 mg/kg produjeron resultados iguales entre sí e inferiores al control (0 mg de zinc/kg) (Cuadro 6). En este caso, dos interacciones significativas surgieron; una

entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc, la otra entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental.

Al analizar la interacción entre concentración adicional de zinc y fuente de zinc (Figura 2), se advierte que cualquiera de las concentraciones probadas disminuye la lipoperoxidación respecto al control (0mg/kg) sin importar el tipo de fuente. Aunque la concentración de zinc de 80 mg/kg muestra un efecto contrario, según la fuente empleada, no hay una clara diferencia en el efecto general de las concentraciones.

De modo semejante, en la interacción entre concentración adicional de zinc y temperatura ambiental (Figura 3), se distingue que la lipoperoxidación disminuye al adicionar 40, 80 y 120 mg de zinc/kg respecto al control (0mg/kg), tanto en temperatura ambiental neutral como en cálida. Y aunque el efecto de la concentración de 40 mg/kg no es el mismo en la temperatura neutral que en la cálida; ya que en la neutral tiene un valor superior a 80 y 120 mg/kg y en la cálida es inferior a los mismos. No hay una clara diferencia en el efecto general de las concentraciones.

Los datos anteriores indican que la adición de zinc a una dosis de 40 mg/kg produce el mismo efecto antioxidante que 80 y 120 mg/kg. Ya que 40 mg/kg fueron capaces de disminuir la lipoperoxidación en el plasma sanguíneo al igual que las otras concentraciones. Y aunque los datos sugieren que 120 de zinc mg/kg es la dosis con la que se obtiene la mayor capacidad antioxidante en el plasma de pollos criados en un ambiente cálido; no se demuestra que, bajo las

mismas circunstancias, esta concentración sea suficiente para evitar la oxidación de los ácidos grasos o lipoperoxidación, y por lo tanto, la aparición del estrés oxidativo. Esto se deduce al considerar que: la consecuencia del estrés oxidativo es el daño a las biomoléculas (Lykkesfeldt y Svendsen, 2007), y que el requisito para que algún compuesto sea considerado como antioxidante es que debe retrasar significativamente o inhibir la oxidación de un sustrato oxidable (Halliwell y Gutteridge, 1990; Kirschvink *et al.*, 2008).

Sahin *et al.* (2005) demostraron que en codornices japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) sometidas a estrés calórico crónico la adición de zinc como sulfato o picolinato (0, 30 y 60 mg/kg) mejora el peso de la canal, aumenta la concentración sérica de vitaminas (C, E y A) y disminuye la lipoperoxidación en suero sanguíneo, en forma lineal. Mientras que en aves mantenidas en un ambiente termoneutral la adición no produce efecto.

En relación a la fuente de zinc, los resultados prueban que tiene efecto sobre el estrés oxidativo. El Zn-(HMTBa)₂ (fuente orgánica) aumenta la capacidad antioxidante, pero también aumenta el daño proteínico por oxidación. Mientras que el ZnO (fuente inorgánica) produce los efectos contrarios; es decir, disminuye la capacidad antioxidante y el daño proteínico por oxidación (Cuadros 5 y 7). Entonces, considerando la premisa antes expuesta de que un antioxidante debe retrasar o inhibir la oxidación de un sustrato oxidable, el ZnO fue la fuente con la mejor respuesta antioxidante.

Los resultados del análisis estadístico no mostraron interacción alguna de la fuente de zinc en la variable capacidad antioxidante (Cuadro 5). Pero mostraron que la fuente de zinc interactuó significativamente con la concentración adicional de zinc y con la temperatura ambiental en el daño proteínico por oxidación (Cuadro 7). En el análisis gráfico de estas interacciones se distingue que el Zn-(HMTBa)₂ indujo un mayor daño proteínico por oxidación que el ZnO, sin importar la concentración de zinc o la temperatura ambiental (Figuras 4 y 5); lo que apoya a los resultados del análisis estadístico.

Por último, los resultados demostraron que la temperatura ambiental modificó significativamente al estrés oxidativo (Cuadros 5 y 6.). Las aves mantenidas en un ambiente con temperatura cálida desarrollaron menor capacidad antioxidante y menor lipoperoxidación, que las que se criaron en ambiente con temperatura neutral. Por lo tanto, el ambiente cálido fue el que menor estrés oxidativo produjo. Además, la temperatura ambiental y la concentración adicional de zinc interactuaron significativamente en la capacidad antioxidante y la lipoperoxidación.

En el análisis gráfico de estas interacciones se distingue que tanto la capacidad antioxidante (Figura 1) como la lipoperoxidación (Figura 3) es menor en los pollos criados en un ambiente cálido en comparación a los de un ambiente termoneutral. Lo que corrobora al análisis estadístico.

El efecto de la temperatura, en esta investigación, no concuerda con los resultados de investigaciones previas (Lin *et al.*, 2006; Mujahid *et al.*, 2007; Yang

et al., 2010), en las cuales, los pollos sometidos a estrés calórico agudo o crónico siempre desarrollaron más lipoperoxidación que los que se mantuvieron en condiciones termoneutrales. Aunque cabe mencionar que en estas investigaciones la edad de los pollos siempre fue mayor a los 21 días, que las estirpes fueron Cobb o Arbor Acres, la humedad relativa fue mayor a la que se sometieron las aves en esta investigación (que fue del 30–40%) y que (excepto Lin *et al.*, 2006) la lipoperoxidación se midió en tejidos o células (no en plasma).

Es pertinente mencionar también que al final del experimento se midió individualmente la ganancia de peso a los 21 días. Esta variable se analizó estadísticamente para determinar si la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental tuvieron efecto sobre ella. Los resultados indican que ningún factor modificó significativamente la ganancia de peso ($P > 0.05$) (Anexo 3). Esto y los resultados de estrés oxidativo sugieren que las condiciones ambientales no provocaron un estrés calórico considerable.

En otro aspecto, Villar-Patiño *et al.* (2002) y Díaz-Cruz *et al.* (2003) encontraron que la vitaminas E y C, así como el ácido lipoico disminuyen el estrés oxidativo (lipoperoxidación en corazón) en pollos de engorda sólo después de los 21 días de edad.

En esta investigación, se demuestra que la adición de zinc tiene efecto antioxidante a los 21 días, sin embargo, no se demuestra efecto en la ganancia de peso. En el futuro, es necesario realizar, en el ciclo completo del pollo, investigaciones que determinen si una concentración mayor a 40mg/kg tiene

efecto antioxidante y su relación con los indicadores productivos. Además, es necesario establecer la relación entre los indicadores de estrés oxidativo en plasma sanguíneo y en órganos, para determinar cuáles son más útiles para medir este trastorno metabólico.

CONCLUSIONES

El zinc adicionado en el alimento tiene efecto antioxidante y una dosis 40 mg/kg tiene el mismo efecto que concentraciones mayores (hasta 120 mg/kg), en los primeros 21 días de edad.

El ZnO induce el menor estrés oxidativo comparado con Zn-(HMTBa)₂, en los primeros 21 días de edad.

El modelo empleado en este experimento para inducir estrés calórico y estrés oxidativo no es útil para este fin.

REFERENCIAS

1. Abudu N, Miller JJ, Attaelmannan M, Levinson SS. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. *Clin Chim Acta* 2004;339:11-25.
2. Agarwal A, Saleh RA and Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79:829-843.
3. Altan Ö, Pabuçcuğolu A, Altan A, Konyalıoğlu S, Bayraktar H. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *Br Poult Sci* 2009;44:545-550.
4. Aslan M, Cort A, Yucel I. Oxidative and nitrative stress markers in glaucoma. *Free Radic Biol Med* 2008;45:367-376.
5. Avanzo JL, de Mendonça CX, Pugine SM, de Cerqueira Cesar M. Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2001;129:163-73.
6. Aviagen. Ross: suplemento de nutrición del pollo de engorde 2009 [Internet]. Huntsville (Al): Aviagen; 2009 Jun [cited 2010 Nov]. Available from:
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/Ross-Suplemento-Nutricin-Pollo-Engorde-2009.pdf

7. Azzi A. Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radic Biol Med* 2007;43:16–21.
8. Balogh K, Weber M, Fodor J, Erdélyi M, Mézes M. Effects of T-2 toxin with/without selenium supplementation on biological antioxidant status of broiler chickens. *Toxicol Lett* 2008;180S:S32–S246.
9. Bates DJ, Liang R, Li N, Wang E. The impact of noncoding RNA on the biochemical and molecular mechanisms of aging. *Biochim Biophys Acta* 2009;1790:970–979.
10. Benzie I and Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 1999;299:15–27.
11. Bettger WJ and O'Dell BL. Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells. *J Nutr Biochem* 1993;4:194–207.
12. Bottje WG, Wang S, Beers KW, and Cawthon D. Lung lining fluid antioxidants in male broilers: age-related changes under thermoneutral and cold temperature conditions. *Poult Sci* 1998;77:1905–1912.
13. Bottje WG, Pumford NR, Ojano-Dirain C, Iqbal M and Lassiter K. Feed efficiency and mitochondrial function. *Poult Sci* 2006;85:8–14.
14. Bottje WG and Carstens GE. Association of mitochondrial function and feed efficiency in poultry and livestock species. *J Anim Sci* 2009;87:E48–E63.

15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248–254.
16. Bruno RS, Song Y, Leonard SW, Mustacich DJ, Taylor AW, Traber MG, Hob E. Dietary zinc restriction in rats alters antioxidant status and increases plasma F2 isoprostanes. *J Nutr Biochem* 2007;18:509–518.
17. Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R. Roles of amyloid β -peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radic Biol Med* 2007;43:658–677.
18. Cadet J, Douki T, Ravanat J. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. *Free Radic Biol Med* 2010;49:9–21.
19. Cao J, Henry PR, Guo R, Holwerda RA, Toth JP, Littell RC, Miles RD and Ammerman CB. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *J Anim Sci* 2000;78:2039–2054.
20. Cao J, Henry PR, Davis SR, Cousins RJ, Miles RD, Littell RC, Ammerman CB. Relative bioavailability of organic zinc sources based on tissue zinc and metallothionein in chicks fed conventional dietary zinc concentrations. *Anim Feed Sci Technol* 2002;101:161–170.
21. Carlsen CU, Møller J, Skibsted LH. Heme-iron in lipid oxidation. *Coord Chem Rev* 2005;249:485–498.

22. Cash TP, Pan Y, Simon MC. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radic Biol Med* 2007;43:1219–1225.
23. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:1482–1495.
24. Cawthon D, McNew R, Beers KW and Bottje WG. Evidence of mitochondrial dysfunction in broilers with pulmonary hypertension syndrome (ascites): effect of t-butyl hydroperoxide on hepatic mitochondrial function, glutathione, and related thiols. *Poult Sci* 1999;78:114–124.
25. Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D. Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res* 2009;681:51–67.
26. Chisté RN, Mercadante AZ, Gomes A, Fernandes E, Costa Lima JL, Bragagnolo N. In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chem* 2011;127:419–426.
27. Costantini D, Møller AP. Does immune response cause oxidative stress in birds? A meta-analysis. *Comp Biochem Physiol Part A* 2009;153:339–344.
28. Cortese MM, Suschek CV, Wetzel W, Kröncke KD, Kolb-Bachofen V. Zinc protects endothelial cells from hydrogen peroxide via Nrf2-dependent stimulation of glutathione biosynthesis. *Free Radic Biol Med* 2008;44:2002–2012.
29. Cousins RJ, Liuzzi JP and Lichten LA. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J Biol Chem* 2006;281:24085–24089.

30. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R and Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003;9:169–176.
31. Danielson SR, Andersen JK. Oxidative and nitrative protein modifications in Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med* 2008;44:1787–1794.
32. Díaz-Cruz A, Serret M, Ramírez G, Ávila E, Guinzberg R, Piña E. Prophylactic action of lipoic acid on oxidative stress and growth performance in broilers at risk of developing ascites syndrome. *Avian Pathol* 2003;32:645–653.
33. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, and Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med* 2002;32:1102–1115.
34. Eide DJ. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:711–722.
35. Eraslan G, Akdogan M, Yarsan E, Sahindokuyucu F, Essiz D, Altintas L. The Effects of Aflatoxins on Oxidative Stress in Broiler Chickens. *Turk J Vet Anim Sci* 2005;29:701–707.
36. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004;567:1–61.
37. Faa G, Nurchi VM, Ravarino A and Fanni D. Zinc in gastrointestinal and liver disease, *Coord Chem Rev* 2008;252:1257–1269.
38. Fébel H, Mézes M, Pálffy, Hermán A, Gundel J, Lugasi A, Balogh K, Kocsis I and Blázovis A. Effect of dietary fatty acid pattern on growth, body fat

- composition and antioxidant parameters in broilers. *Journal of Anim Physiol Anim Nutr* 2008;92:369–376.
39. Fellenberg MA and Speisky H. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *Worlds Poult Sci J* 2006;62:53–70.
 40. Ferguson LR. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat Res* 2001;475:89–111.
 41. Formigari A, Irato P, Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated–apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp Biochem Physiol Part C* 2007;146:443–459.
 42. Georgieva NV, Koinarski V, Gadjeva V. Antioxidant status during the course of *Eimeria tenella* infection in broiler chickens. *Vet J* 2006;172:488–492.
 43. Guo Y, Tang Q, Yuan J, Jiang Z. Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. *Anim Feed Sci Technol* 2001;89:165–173.
 44. Gutteridge JM. The use of standards for malonyldialdehyde. *Anal Biochem* 1975;69:518–526.
 45. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in biology and medicine*. 3th ed. New York: Oxford Press, 1999.
 46. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990;280:1–8.

47. Hawkins CL, Morgan PE and Davies MJ. Quantification of protein modification by oxidants. *Free Radic Biol Med* 2009;46:965–988.
48. Ho E. Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *J Nutr Biochem* 2004;15:572–578.
49. Hoyland D y Taylor A. A Review of the Methodology of the 2-Thiobarbituric Acid Test. *Food Chem* 1991;40:271–291.
50. Hudson BP, Dozier WA, Wilson JL. Broiler live performance response to dietary zinc source and the influence of zinc supplementation in broiler breeder diets. *Anim Feed Sci Technol* 2005;118:329–335.
51. Iqbal M, Cawthon D, Wideman RF and Bottje WG. Lung mitochondrial dysfunction in pulmonary hypertension syndrome. II. Oxidative stress and inability to improve function with repeated additions of adenosine diphosphate. *Poult Sci* 2001;80:656–665.
52. Iqbal M, Pumford NR, Tang ZX, Lassiter K, Ojano-Dirain C, Wing T, Cooper M and Bottje W. Compromised liver mitochondrial function and complex activity in low feed efficient broilers are associated with higher oxidative stress and differential protein expression. *Poult Sci* 2005;84:933–941.
53. Ivanov I, Heydeck D, Hofheinz K, Roffeis J, O'Donnell VB, Kuhn H, Walther M. Molecular enzymology of lipoxygenases. *Arch Biochem Biophys* 2010;2010:161–174.
54. Jenner A, Ren M, Rajendran R, Ning P, Tan Kwong Huat B, Watt F, Halliwell B. Zinc supplementation inhibits lipid peroxidation and the development

- of atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. *Free Radic Biol Med* 2007;42:559–566.
55. Jezek P and Hlavatá L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *The Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 2478–2503.
 56. Kietzmann T, Görlach A. Reactive oxygen species in the control of hypoxia-inducible factor-mediated gene expression. *Semin Cell Dev Biol* 2005;16:474–486.
 57. Kirkman HN and Gaetani GF. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci* 2007;32:44–50.
 58. King JC, Shames DM and Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000;130:1360S–1366S.
 59. Kirschvink N, Moffarts B, Lekeux P. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet J* 2008;177:178–191.
 60. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med* 2009;47:333–343.
 61. Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, Georgakilas AG. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat Res* 2011; 711: 193–201.
 62. Kucukbaya Z, Yazlak H, Sahin N, Tuzcu M, Cakmake MN, Gurdogan F, Juturu V, Sahin K. Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2006;257:465–469.

63. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog Lip Res* 2007;46:244–282.
64. Lawrence JM, Michael JB, Morton R and Melissa AT. Studies of the hydrolysis of ¹⁴C-labeled tetraethoxypropane to malondialdehyde. *Anal Biochem* 1979;99:458–463.
65. Leal M, Shimada A, Ruíz F, González de Mejía E. Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. *Toxicol Lett* 1999;109:1–10.
66. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz A, Ahn B, Shaltiel S and Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990;186:464–478.
67. Lin H, Decuypere E, Buyse J. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. : *Comp Biochem Physiol A* 2006;144:11–17.
68. Lykkesfeldt J and Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J* 2007;173:502–511.
69. Maini S, Rastogi SK, Korde JP, Madan AK and Shukla SK. Evaluation of oxidative stress and its amelioration through certain antioxidants in broilers during summer. *J Poult Sci* 2007;44:339–347.
70. Matés JM, Pérez-Gómez C, and Núñez de Castro. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32:595–603.
71. McCall KA, Huang CC, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr* 2000;130:1437S–1446S.

72. Milne GL, Yin H, and Morrow JD. Human biochemistry of the isoprostane pathway. *J Biol Chem* 2008;283:15533–15537.
73. Mocchegiani E, Bertoni–Freddari C, Marcellini F, Malavolta M. Brain, aging and neurodegeneration: role of zinc ion availability. *Prog Neurobiol* 2005;75:367–390.
74. Moreira PI, Nunomura A, Nakamura M d, Takeda A, Shenk JC, Aliev G, Smith MA, Perry G. Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med* 2008;44:1493–1505.
75. Mujahid A, Pumford NR, Bottje W, Nakagawa K, Miyazawa T, Akiba Y and Toyomizu M. Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *J Poult Sci* 2007;44:439–445.
76. Mujahid A, Furuse M. Oxidative damage in different tissues of neonatal chicks exposed to low environmental temperature. *Comp Biochem Physiol Part A* 2009;152:604–608.
77. Murphy RC and Johnson KM. Cholesterol, reactive oxygen species, and the formation of biologically active mediators. *J Biol Chem* 2008;283:15521–15525.
78. Naidoo V, McGaw LJ, Bisschop SP, Duncan N, Eloff V. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Vet Parasitol* 2008;153:214–219.
79. Nain S, Ling B, Bandy B. The role of oxidative stress in the development of congestive heart failure in a chicken genotype selected for rapid growth. *Avian Pathol* 2008;37:367–373.

80. Nam KT, Lee HA, Min BS, Kang CW. Influence of dietary supplementation with linseed and vitamin E on fatty acids, α -tocopherol and lipid peroxidation in muscles of broiler chicks. *Anim Feed Sci Technol* 1997;66:149–158.
81. Nelson DL and Cox MM. *Lehninger: principles of biochemistry*. 5th ed. USA: Freeman and Company, 2008.
82. Niki E. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med* 2009;47:469–484.
83. NRC. *Nutrient requirements of poultry*, 9th ed. Washinton DC: National Academic Press, 1994.
84. Núñez LO, Bouda J. *Patología clínica veterinaria*. 1a ed. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 2007.
85. O'Dell BL. Role of zinc in plasma membrane function. *J Nutr* 2000;130:1432S–1436S.
86. Ohkawa H, Ohishi N y Yagui K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351–358.
87. O'Neill LM, Galvin K, Morrissey PA & D. J. Buckley DJ. Inhibition of lipid oxidation in chicken by carnosine and dietary α -tocopherol supplementation and its determination by derivative spectrophotometry. *Meat Sci* 1998;50:479–488.
88. Pamplona R. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta* 2008;1777:1249–1262.

89. Patel RP, McAndrew J, Sellak H, White CR, Jo H, Freeman BA, Darley–Usmar BM. Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:385–400.
90. Patrono C, Falco A and Daví G. Isoprostane formation and inhibition in atherothrombosis. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5:198–203.
91. Pensalfini A, Cecchi C, Zampagni M, Becatti M, Favilli F, Paoli P, Catarzi S, Bagnoli S. Protective effect of new S–acylglutathione derivatives against amyloid–induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2008;44:1624–1636.
92. Perron NR, García CR, Pinzón, Chaur MN, Brumaghim JL. Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper mediated DNA damage. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2011;105:745–753.
93. Petti S and Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent* 2009;37:413–423.
94. Pinelli E, Adlouni CE, Pipy B, Quartulli F, Pfohl–Leszkowicz A. Roles of cyclooxygenase and lipoxygenases in ochratoxin A genotoxicity in human epithelial lung cells. *Environ Toxicol Pharmacol* 1999;7:95–107.
95. Polyakov ME, Kruppa EI, Leshina TV, Konovalova TA and Kispert LD. Carotenoids as antioxidants: spin trapping EPR and optical study. *Free Radic Biol Med* 2001;31:43–52.
96. Powell SR. The Antioxidant Properties of Zinc. *J Nutr* 2000;130:1447S1454S.

97. Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarkar FH. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med* 2004;37:1182–1190.
98. Prasad A. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Exp Gerontol* 2008;43:370–377.
99. Rao AV and Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutrit Res* 1999;19:305–323.
100. Ratnam V, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Ravi Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Control Release* 2006;113:189–207.
101. Rodríguez FA. Comparación de la biodisponibilidad de un complejo orgánico de zinc y un complejo inorgánico, respuesta a parámetros productivos, inmunológica y resistencia de tejidos en pollos de engorda alimentados con una dieta a base de maíz-soya (tesis de maestría). Coyoacán (Distrito federal) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009.
102. Rubio C, González Weller D, Martín-Izquierdo RE, Revert C, Rodríguez I y Hardisson A. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp* 2007;22:101–107.
103. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (MX). Programa Nacional Pecuario [Internet]. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; 2007 Sep [cited 2011 May]. Available from:

<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Paginas/ProgNacPecuuario.aspx>

104. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (MX). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACOM) [Internet]. DF (MX): Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 1980–2009 [Update 2010 Sep; cited 2011 May] Available from: http://www.siap.sagarpa.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=181&Itemid=426
105. Sahin K, Sahin N, Sarı N, Gursu MF. Effects of vitamins E and A supplementation on lipid peroxidation and concentration of some mineral in broilers reared under heat stress (32°C). *Nutr Res* 2002;22:723–731.
106. Sahin K, Smith MO, Onderci M, Sahin N, Gursu MF and Kucuk O. Supplementation of Zinc from Organic or Inorganic Source Improves Performance and Antioxidant Status of Heat-Distressed Quail. *Poult Sci* 2005;84:882–887.
107. Salgueiro MJ, Zubillaga M, Lysionek A, Sarabia MI, Care R, De Paoli T, Hager A, Weill R, and Boccio J. Zinc as an essential micro nutrient: a review. *Nutr Res* 2000;5:737–755.
108. Schneider C, Porter NA, and Brash AR. Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *J Biol Chem* 2008;283:15539–15543.

109. Sedelnikova OA, Redon CE, Dickey JS, Nakamura AJ, Georgakilas AG, Bonner WM. Role of oxidatively induced DNA lesions in human pathogenesis. *Mutat Res* 2010;704:152-159.
110. Silva-Santana SC, Silva AD, Feitas MM, Oliveira RS, Silva SMM Oliveira SF, Kolsteren P. Parameters of evaluation of zinc nutritional status: comparison between zinc hair rates and serum alkaline phosphatase in preschoolers of the Municipality of João Pessoa, Paraíba. *Rev Bras Saúde Matern Infant* 2002;2:275-282.
111. Sochacka E. and Smuga D. Uracil ring opening in the reaction of 5-formyl-20-deoxyuridine with primary alkyl amines. *Tetrahedron Lett* 2007;48:1363-1367.
112. Tang Z, Iqbal M, Cawthon D, Bottje WG. Heart and breast muscle mitochondrial dysfunction in pulmonary hypertension syndrome in broilers (*Gallus domesticus*). *Comp Biochem Physiol Part A* 2002;132:527-540.
113. Traber MG. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007;43:4-15.
114. Tsang A and Chung K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792:643-650.
115. Urig S, Becker K. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy. *Semin Cancer Biol* 2006;16:452-465.

116. Valko M, Leibfriz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44–84.
117. Villar-Patiño G, Díaz-Cruz A, Ávila-González E, Guinzberg R, Pablos JL, Piña E. Effects of dietary supplementation with vitamin C and vitamin E on cardiac lipid peroxidation and growth performance in broilers at risk of developing ascites. *Am J Vet Res* 2002;63:676–676.
118. Varghese J, Faith M, Jacob M. Zinc prevents indomethacin-induced renal damage in rats by ameliorating oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Eur J Pharmacol* 2009;614:114–121.
119. Weber M, Balogh K, Erdélyi M and Mézes M. Effect of T-2 toxin in combination with vitamin E, selenium and mycotoxin binder on lipid peroxide status and on the glutathione redox system in broiler chicken. *J Poult Sci* 2006;43:222–227.
120. Yan L-J, Forster MJ. Chemical probes for analysis of carbonylated proteins: a review. *J Chromatogr B* 2010 (en prensa);doi:10.1016/j.jchromb.2010.08.004.
121. Yang L, Tan G, Fu Y, Feng J, Zhang M. Effects of acute heat stress and subsequent stress removal on function of hepatic mitochondrial respiration, ROS production and lipid peroxidation in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol Part C* 2010;151:204–208.
122. Zago MP and Oteiza PI. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2001;31:266–274.

123. Zhao Y, Tan Y, Dai J, Li B, Guo L, Cui J, Wang G, Shi X, Zhang X, Mellen N, Li W, Cai L. Exacerbation of diabetes-induced testicular apoptosis by zinc deficiency is most likely associated with oxidative stress, p38 MAPK activation, and p53 activation in mice. *Toxicol Lett* 2011;200:100–106.
124. Zicker SC, Wedekind KJ, Jewell DE. Antioxidants in Veterinary Nutrition. *Vet Clin Small Anim* 2006;36:1183–1198.

ANEXOS

Anexo 1. Cantidad de la fuente de Zn en las dietas experimentales.

Fuente	Necesidad mg/kg	Disponibilidad %	Cantidad de la fuente mg/kg
ZnO	40	72	55.55
	80	72	111.11
	120	72	166.66
Zn-(HMTBa) ₂	40	16	250.00
	80	16	500.00
	120	16	750.00

Anexo 2. Ficha Técnica de Mintrex.



data sheet



Overview

MINTREX[®] chelated trace minerals are a highly bioavailable source of trace minerals protected by HMTBa (ALIMET[®] feed supplement).

- Since Novus manufactures the ligand in MINTREX, the product is fully defined and guaranteed.
- Research has proven MINTREX delivers more bioavailable trace metal to the small intestine than other leading trace mineral solutions.

Ordering Information

Call Novus International, Inc. Customer Service Department at toll free 800.556.0088 in the United States or Canada or 314.576.8886 outside of the United States and Canada.

Product Description

MINTREX[®] Zn is a fully-defined structure that delivers 16% zinc as zinc methionine hydroxy analogue chelate and 80% methionine value.

Feeding Instructions

Feed continuously as a component of a complete ration

- Broilers, turkeys, ducks, breeders, and layers
- 0.125 - 0.250 kg/metric ton (0.25 - 0.50 lb/ton) of complete feed to deliver 20-40 ppm

Nutrient Specifications

Minimum 16% by weight zinc as zinc methionine hydroxy analogue chelate

- Methionine value (MHA) 80% by weight
- Methionine activity (as HMTBa) per 2g feeding rate: 1.6 grams
- Methionine activity as a percentage of dry matter: 80.4%
- Poultry AMEn: 3,823 kcal/kg
- Protein value: 47.0%

Product Characteristics

Appearance:	Gray-tan powder
Odor:	Sulfur
Bulk density:	0.79 grams/cm ³
Packaging:	25 kg bag
Shelf life:	Minimum 3 years when stored as directed

Storage Instructions

Store at ambient temperatures in a sealed container. Keep dry at all times.



Anexo 3. Ganancia de peso a los 21 días por efecto de la concentración adicional de zinc, la fuente de zinc y la temperatura ambiental.

Factor	P	Nivel	Media gramos
Concentración adicional de zinc	0.056	0	849.250
		40	848.278
		80	825.438
		120	861.269
Fuente de zinc	0.092	IN	838.079
		OR	854.038
Temperatura ambiental	0.132	NE	853.188
		CA	838.930
Interacciones			
Concentración x Fuente	0.311		
Concentración x Temperatura	0.031		
Fuente x Temperatura	0.426		
Concentración x Fuente x Temperatura	0.088		

0: 0 mg/kg, 40:40 mg/kg, 80: 80mg/kg, 120: 120 mg/kg; IN: inorgánica, OR: orgánica; NE: neutral (32-34°C días 0-3, 30-32°C días 4-6, 28-30°C días 7-13, 26-28°C días 14-21); CA: cálida (32-34°C días 0-13, 32-34°C/12 h los días 14-21 y 26-28°C/12 h los días 14-21); los superíndices distintos representan diferencias significativas a una $P < 0.05$.